

UNIVERSITÉ DE PARIS — FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1958-1959

Série E n°

THÈSES

présentées à la

FACULTÉ DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

pour l'obtention du

GRADE DE DOCTEUR D'ÉTAT EN PHARMACIE

par

Marie - Claude COLAS

Pharmacien

Diplômée d'Études Supérieures de Chimie Biologique
et de Microbiologie, Sérologie, Hématologie, Parasitologie

Attachée de Recherches au Centre National de la Recherche Scientifique

PREMIÈRE THÈSE :

RECHERCHES SUR L'INOSITOL SANGUIN ET URINAIRE. MODALITÉS DE L'ÉLIMINATION RÉNALE.

DEUXIÈME THÈSE :

Propositions données par la Faculté

Soutenues le Juin 1959, devant la Commission d'examen

Jury { MM. J. E. COURTOIS, Président
Y. RAOUL, Professeur
P. MALANGEAU, Professeur

DACTYLO-SORBONNE

8, Rue Casimir-Delavigne
PARIS-VI°

1959





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554027_0011

UNIVERSITÉ DE PARIS — FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1958-1959

Série E n°

THÈSES

présentées à la

FACULTÉ DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

pour l'obtention du

GRADE DE DOCTEUR D'ÉTAT EN PHARMACIE

par

Marie - Claude COLAS

Pharmacien

Diplômée d'Études Supérieures de Chimie Biologique
et de Microbiologie, Sérologie, Hématologie, Parasitologie

Attachée de Recherches au Centre National de la Recherche Scientifique

PREMIÈRE THÈSE :

RECHERCHES SUR L'INOSITOL SANGUIN ET URINAIRE. MODALITÉS DE L'ÉLIMINATION RÉNALE.

DEUXIÈME THÈSE :

Propositions données par la Faculté

Soutenues le **Juin 1959, devant la Commission d'examen**

Jury { MM. J. E. COURTOIS, Président
Y. RAOUL, Professeur
P. MALANGEAU, Professeur

DACTYLO-SORBONNE

8, Rue Casimir - Delavigne
PARIS - VI*

1959

PERSONNEL DE LA FACULTE DE PHARMACIE DE PARIS

-:-

ADMINISTRATION

M. René FABRE, Doyen, Membre de l'Institut
MM. JANOT, Assesseur, G. CUVIER, Secrétaire Général
M. L. JEANDEL, Secrétaire
Doyen Honoraire : M. RADAIS

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. DELEPINE, et LEBEAU , Membres de l'Institut ;
LAUNOY, FLEURY, MASCRE, PICON

PROFESSEURS

MM. FABRE, Membre de l'Institut	Toxicologie (T.)
JANOT	Pharmacie galénique (T.)
VALETTE	Pharmacodynamie (T.)
BEDEL	Législation, Déontologie, et Histoire de la Pharmacie(T.)
PARIS	Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale (T.)
GUILLOT	Physique (T.)
GAUTIER	Chimie organique (T.)
Melle LAMBIN	Microbiologie (T.)
MM. RAOUL	Zoologie appliquée (T.)
COURTOIS	Chimie biologique (T.)
DOMANGE	Chimie minérale (T.)
CRETE	Botanique (T.)
TRUHAUT	Toxicologie et Hygiène industrielle (T.P.)
MORETTE	Hydrologie (T.)
CAVIER	Parasitologie (T.P.)
QUEVAUVILLER	Hygiène (T.)
MOREAU	Pharmacie chimique (T.)
GUY	Mathématiques appliquées aux sciences physiques et biologiques (T.P.)
GERMAN	Technique bactériologique (T.P.)
PIETTE	Biologie sanguine (T.P.)
MALANGEAU	Chimie analytique (T.)

MAITRES DE CONFERENCES

MM. DEYSSON	Cryptogamie
FLAHAUT	Minéralogie
RENAULT J.	Chimie organique
DILLEMANN	Biologie végétale
GIRARD	Chimie analytique

MM. LARUELLE	Physique
LE MOAN	Toxicologie
ROSSIGNOL	Pharmacodynamie
LE HIR	Pharmacie galénique
RENAULT H.	Pharmacie chimique

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM. BORY	Sérologie
CORRIEZ	Physique
DESVIGNES	Microbiologie
GARDENT	Chimie analytique (1re année)
GESTEAU	Physique biologique
HARISPE	Chimie générale et pharmaceutique
HENRY	Chimie analytique (2e et 3e années)
LECLERC	Chimie biologique
Melle LONGUEVALLE	Service des examens de Chimie
PELLERIN	Chimie analytique (2e et 3e années)
PERCHERON	Chimie (4e année)
POTTIER	Pharmacie galénique industrielle
Melle ROLLEN	Biologie végétale
SAVEL	Parasitologie

INSTITUT DE PHARMACOTECHNIE ET DE PHARMACODYNAMIE

M. GOUTAREL	Chef de Travaux de Pharmacotechnie galénique
Melle MORIN	Chef de Trav. de Pharmaco- dynamie
M. LUSINCHI	Chef de Trav. de Pharmac. chimique

BIBLIOTHEQUE

Conservateur, chargé de la Direction : M. GARNIER
 Conservateur : Melle LAVAUD
 Bibliothécaires : Mmes DESGRIPPES et KREHMER

A Monsieur le Professeur P. FLEURY

Membre de l'Académie de Médecine
Professeur Honoraire à la Faculté de Pharmacie
de Paris
Officier de la Légion d'Honneur

Qui nous a toujours honorée de son
bienveillant intérêt.

En témoignage de notre respectueuse
gratitude.

A Monsieur le Professeur J.E. COURTOIS

Professeur de Chimie Biologique à la Faculté
de Pharmacie
Pharmacien des Hôpitaux de Paris
Chevalier de la Légion d'Honneur

Qui nous a confié le sujet de cette
thèse et nous a fait l'honneur de
présider notre jury,

en témoignage de notre profonde
reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Y. RAOUL

Professeur à la Faculté de Pharmacie
Chevalier de la Légion d'Honneur

qui a bien voulu faire partie de
notre jury de thèse,

avec l'expression de notre vive
gratitude.

A Monsieur le Professeur P. MALANGEAU

Professeur à la Faculté de Pharmacie
Pharmacien-Chef des Hôpitaux Psychiatriques
de la Seine

qui nous a fait bénéficier de
ses précieux conseils et a
bien voulu examiner ce
travail.

en témoignage de notre sincère
reconnaissance.

A Monsieur R. PERLES

Assistant de la Chaire de Chimie Biologique
à la Faculté de Pharmacie
Pharmacien-Chef des Etablissements Nationaux

qui nous a constamment dirigée
au cours de nos recherches.

avec nos plus sincères remercie-
ments.

A mon Père

qui fut mon maître de stage

A ma Mère

en témoignage de ma profonde
affection.

A ma Famille

A mes Amis

RECHERCHES SUR L'INOSITOL SANGUIN ET URINAIRE.

MODALITES DE L'ELIMINATION RENALE

INTRODUCTION

-:-

La présence dans l'urine de nésoinositol, l'un des cyclohexanehexols (de configuration $\frac{1 \cdot 2 \cdot 3 \cdot 5}{4 \cdot 6}$ selon la nomenclature de FLETCHER, ANDERSON et HARDY (26) est connue depuis les recherches de CLOETTA (1856) qui décela cette substance dans l'urine d'un sujet atteint de mal de Bright.

De nombreux auteurs abordèrent ensuite le problème de l'inosurie normale et pathologique. L'inositol, comme l'avait constaté SCHERER qui l'isola le premier du muscle de boeuf en 1850, contrairement au glucose, ne réduit pas la liqueur de Fehling, ne brunit pas avec les alcalis, ne fermente pas par la levure de bière, est dépourvu de pouvoir rotatoire. Si le problème de sa caractérisation dans l'urine se trouva résolu par l'emploi de la réaction colorée de SCHERER-GALLOIS basée sur la propriété de l'inositol de donner par oxydation sans rupture du cycle des composés quinoniques dont les sels alcalino terreux sont colorés, la mise au point d'une technique de dosage se heurta encore longtemps au manque de réactivité de ce polyol. P. FLEURY et P. BALATRE (27) ont fait le point de toutes les recherches effectuées jusqu'en 1947.

En 1929, P. FLEURY et J. MARQUE (31) appliquèrent à l'inositol la méthode à l'iodomercurate alcalin de Baudoin et Lewin. Mais cette méthode manquait de spécificité, le réactif attaquant les polyols linéaires comme les cyclitols. Puis, P. FLEURY et J. LANGE (30) mirent au point une méthode de dosage basée sur l'oxydation de l'inositol par l'acide periodique

avec rupture du cycle: le dégagement de CO_2 , mesuré par la technique manométrique de Warburg, se révéla assez régulier pour permettre à P. FLEURY et A. RECOULES (32) de déceler la présence d'inositol à des doses variant entre 90 et 200 mg par litre chez une quarantaine de sujets normaux. Cette technique dosait à la fois tous les inositols isomères. Néanmoins, il était dès lors permis de considérer l'inositol comme un constituant normal de l'urine. En 1953, P. FLEURY, J.E. COURTOIS et P. MALANGEAU (28) ont montré la possibilité de séparer le méso-inositol de son isomère le scyllitol en utilisant la chromatographie sur papier et de caractériser les deux corps par la réaction colorée de Scherer-Gallois. Les extraits urinaires suffisamment purifiés pour la recherche du mésoinositol ont été préparés grâce à l'utilisation de résines échangeuses d'ions suivant la technique proposée par P. MALANGEAU (43) : passage sur une résine échangeuse de cations (Permutite "50") puis sur une résine échangeuse d'anions (Déacidite "300"). C. HELLEU (37) observa que la neutralisation par l'ammoniaque des liqueurs acides provenant du traitement par la Permutite et un lavage plus abondant des colonnes de Déacidite par l'eau distillée permettaient d'extraire la quasi-totalité de l'inositol urinaire.

L'adaptation à l'urine par J.E. COURTOIS, C. HELLEU, P. MALANGEAU et R. PERLES (18) du test au Neurospora crassa mutant "inositolless" a permis de doser spécifiquement le méso-inositol urinaire libre dont le chiffre moyen chez le sujet normal adulte a été trouvé voisin de 30 mg par litre. L'utilisation de ces techniques a rendu possible l'étude de l'excrétion rénale du mésoinositol dans diverses affections. De plus, nous avons appliqué le test au Neurospora et la chromatographie sur papier à la détermination de l'inositol libre du plasma dont nous avons observé les variations normales et pathologiques.

Dans une première partie, nous avons exposé l'ensemble des techniques utilisées pour la mesure de l'inosurie et de

l'inosémie . Nous avons donné les valeurs normales de l'inosémie chez l'Homme.

Dans une deuxième partie, nous avons appliqué les techniques précédemment décrites à des urines de sujets atteints de diabète sucré (diabètes pancréatique, rénal, hypophysaire) et de diabète insipide.

Dans une troisième partie, nous avons étudié le taux de l'élimination urinaire du mésoinositol au cours de l'excrétion rénale d'oses (galactose, xylose, arabinose) ; d'un di-holoside (lactose) ; d'hexitols (mannitol, sorbitol). Ces substances ont été caractérisées dans les urines par chromatographie sur papier.

Dans une quatrième partie, l'inositol étant un constituant normal du muscle, nous avons mesuré les taux d'inosémie et d'inosurie au cours de maladies musculaires ou neuromusculaires : myopathies, poliomyélites récentes et polyradiculonévrites.

Dans une cinquième partie, nous nous sommes préoccupée de doser le mésoinositol dans les urines de sujets atteints d'affections rénales : néphrite chronique, néphrose , notamment après surcharge per os en ce cyclitol. Nous avons également déterminé l'inositol plasmatique au cours de néphrites aiguës et chroniques.

Enfin, dans une sixième partie, nous avons pu étudier chez le Chien les modalités de l'élimination rénale du mésoinositol dans les conditions physiologiques normales et au cours d'une épreuve d'hyperinosémie provoquée.

Avant d'exposer nos résultats, nous exprimons notre profonde reconnaissance à M. le Professeur J.E. COURTOIS à qui revient l'initiative de ce travail et qui, avec une extrême bienveillance, nous a prodigué ses conseils éclairés. Nous le prions de trouver ici l'expression de notre respectueux attachement.

Monsieur le Professeur P. FLEURY a suivi notre travail

avec une bienveillance constante dont nous le remercions. Il nous a encouragée par des conseils toujours stimulants. Nous tenons à lui exprimer notre respectueuse gratitude.

Monsieur le Professeur Y. RAOUL a bien voulu faire partie de notre jury. Nous le prions de croire à notre reconnaissance respectueuse.

Monsieur le Professeur P. MALANGEAU, qui connaît bien notre sujet pour avoir pratiqué lui-même l'étude de l'inosurie, nous a encouragée par ses précieux conseils sur la chromatographie des inositols et l'utilisation des résines échangeuses d'ions. Nous lui exprimons notre respectueuse gratitude.

Monsieur le Professeur P. MANDEL, de la Faculté de Médecine de Strasbourg, a bien voulu accepter de nous parrainer au C.N.R.S. : nous lui adressons nos respectueux remerciements.

Nous exprimons notre vive gratitude à M. R. PERLES, Assistant de la Chaire de Chimie Biologique, qui nous a constamment suivie dans nos travaux et nous a fait bénéficier de son expérience scientifique. Nous lui en sommes très particulièrement reconnaissante.

Nos sincères remerciements vont à M. J.J. POCIDALO, Chef de laboratoire à la clinique des Maladies Infectieuses de l'Hôpital Claude Bernard, qui nous a accueillie dans son laboratoire et a bien voulu nous diriger pour notre expérimentation sur l'animal.

Nous remercions enfin tous nos camarades du laboratoire pour leur esprit d'entr'aide et les Internes en Pharmacie des Hôpitaux qui ont contribué à nous procurer le matériel biologique nécessaire à ce travail.

GENERALITES

-:-

Les inositols ou cyclohexane-hexols répondent à la formule générale $(\text{CHOH})_6$, mais existent sous plusieurs formes isomères qui diffèrent par la position des hydroxyles par rapport au plan du cycle.

Les inososes, dérivés d'oxydation des inositols, répondent à la formule générale : $(\text{CHOH})_5 \text{C} = \text{O}$.

Le terme "inositol" sera utilisé pour désigner le méso-inositol, l'isomère le plus important au point de vue biologique et qui fait l'objet de ce travail.

La figure 1 comporte les schémas donnant la configuration spatiale des principaux inositols et inososes dont il sera question ultérieurement.

La position des hydroxyles par rapport au plan du cycle est représentée par une sorte de fraction, suivant la notation de Maquenne.

Nous avons mentionné l'isomytilitol, dérivé transméthylé en 2 du mésoinositol ; il se comporte comme un anti-inositol et inhibe la croissance de Neurospora crassa.

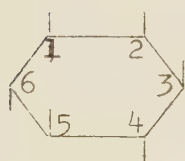
-:-

- Figure 1 -

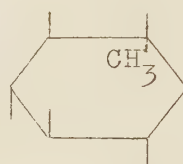
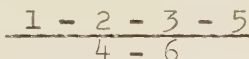
CONFIGURATION DES PRINCIPAUX CYCLOHEXANE-HEXOLS ET DE QUELQUES
UNS DE LEURS DERIVES D'OXYDATION.

(d'après H.G. FLETCHER, L. ANDERSON et A.L. HARDY (26))

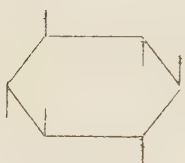
Les traits verticaux figurent la position des hydroxyles
par rapport au plan du cycle.



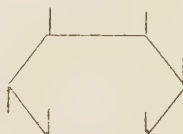
Méso-inositol ou Myo-inositol



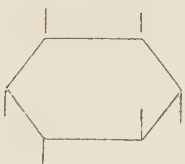
Iso-mytilitol



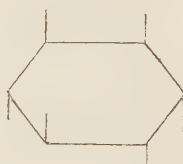
Scyllitol $\frac{1 - 3 - 5}{2 - 4 - 6}$



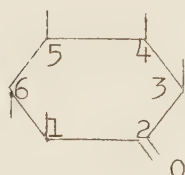
Epi-inositol $\frac{1 - 2 - 3 - 4 - 5}{6}$



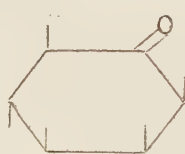
L-inositol $\frac{1 - 2 - 4}{3 - 5 - 6}$



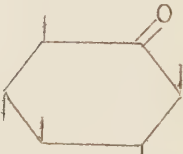
D-inositol $\frac{1 - 2 - 5}{3 - 4 - 6}$



L-épi-inosose 2



D-épi-inosose 2



Scyllo-méso-inosose

METABOLISME ET PROPRIÉTÉS PHYSIOLOGIQUES DU MESOINOSITOL.

Ces dernières années, le problème de la répartition de l'inositol et de son métabolisme ont suscité de nombreux travaux.

Le mésoinositol entre dans la composition de la plupart des tissus animaux (cerveau, poumon, rein, foie, rate, pancréas, muscles du squelette et du coeur, moelle épinière, testicules). Le rein est particulièrement riche en inositol libre : 100 à 115 mg pour 100 g de tissu frais (P. MALANGEAU (43)). MANN (45) a montré que la concentration en inositol libre de la sécrétion des vésicules séminales du Verrat est si élevée que l'on peut obtenir à partir d'un litre de cette sécrétion 18 g d'inositol à l'état cristallisé, mais HARTREE (36) a observé que le Verrat était la seule espèce à présenter une concentration en inositol aussi importante. L'inositol libre a été rencontré dans le cristallin de plusieurs espèces animales à des concentrations variant de 50 mg pour 100 g chez le Rat à environ 500 mg pour 100 g chez l'Homme (Van HEYNINGEN (66)). L'inositol est très répandu dans le règne végétal, sous forme de sel d'ester hexaphosphorique (acide phytique). L'acide phytique et ses sels sont très abondants dans les graines de céréales, accompagnés d'enzymes, les phytases, qui sont capables de les dédoubler et dont l'activité s'accroît au cours de la germination (J.E. COURTOIS et Ch. PEREZ (19)).

L'inositol peut entrer dans la composition d'hétérosides (l' α -D galactopyranosylmésoinositol a été signalé dans les mélasses de betteraves).

L'inositol lipidique a été décelé par ANDERSON (1930) sous forme d'inositophosphatides dans le bacille tuberculeux. Un phosphatidyl-inosito-dimannoside a été identifié dans le B.C.G. (VILKAS (67)).

Les inositophosphatides ont été retrouvés dans différents organes : cerveau, foie (Mc KIBBIN (44)). La structure de l'acide glycéro-inositophosphatidique a été établie par FAURE et

MORELEC-COULON (24) : une molécule de cet acide est formée par 2 acides gras, 1 glycérol, 1 inositol et 1 PO_4H_3 dont une seule fonction acide est libre. CARTER et ses collaborateurs (14) ont identifié dans diverses graines des sphingo-lipides à inositol. Enfin, FOLCH PI et LE BARON (33) ont décrit une forme d'inositol protéique : phosphatidopeptide à inositol, constituant de la neurokératine.

L'inositol se rencontre fréquemment dans les tissus à croissance rapide. Il est très abondant dans le pollen de diverses graminées (AUGUSTIN et NIXON (6)). Selon NIXON (13), le tissu foetal serait le lieu d'une synthèse active d'inositol qui diminue rapidement post partum.

Le fait que l'inositol soit répandu dans les règnes végétal et animal implique sa présence dans le régime alimentaire normal de l'Homme . Il est absorbé moins rapidement que le glucose au niveau de la muqueuse intestinale. Il apparaît probable qu'il est détruit partiellement par la flore intestinale. Cependant, en 1942, WOOLLEY (72) observe une synthèse d'inositol par des bactéries gram-négatif provenant du tractus intestinal de souris qui avaient guéri spontanément de l'alopécie due à une déficience en inositol. L'absorption intestinale de l'inositol-monophosphate de la graine de soja est plus rapide que celle de l'inositol libre durant les deux premières heures qui suivent l'ingestion chez le Rat. Il se produirait une rapide absorption de l'inositol-monophosphate, suivie d'une absorption plus lente de l'inositol libéré après hydrolyse de l'ester par les phosphatases intestinales (WIEBELHAUS, BETHEIL et LARDY (69)).

En 1957, CHARALAMPOUS (15) signale que l'inositol est synthétisé par les cultures de levure à partir de petites molécules dérivées du glucose contenu dans le milieu. En ce qui concerne la transformation d'inositol en glucose, notons l'observation de POSTERNAK, SCHOPFER, REYMOND et LARK (1958) (53) relative à l'apparition de glucose urinaire deutérié sur les

carbones 1 et 3, après administration intra-péritonéale de mésoinositol 6-D à des rats phloridzinés. Il y aurait ouverture du cycle de l'inositol entre C_1 et C_6 , formation d'acide D glucuronique qui, par l'intermédiaire du D-xylulose et le cycle des pentoses, fournit du D glucose. CHARALAMPOUS et LYRAS (17) ont isolé du rein de rat un système enzymatique soluble qui catalyse la conversion oxydative de l'inositol en acide D-glucuronique et dont les propriétés ont été étudiées récemment par CHARALAMPOUS (16). Selon RICHARDSON (57), un système enzymatique particulière du rein de rat transformerait l'inositol en CO_2 par une autre voie, sans passer par l'acide glucuronique, l'acide L gulonique et le L xylulose. ANDERSON et COOTS (3) après injection intrapéritonéale à des rats de 2 ^{14}C myoinositol ont constaté la présence de glycogène radioactif dans le foie, l'acide 5 ^{14}C -D glucuronique étant retrouvé dans les urines. AGRANOFF, BRADLEY et BRADY (2) ont décrit une synthèse enzymatique in vitro des inositolphosphatides en présence de Mg et de cytidyl-choline au niveau du rein de cobaye. Enfin, HERKEN, MAIBAUER et WEYGAND (38) ont observé une radioactivité très marquée au niveau des reins, comparativement aux autres organes, après injection intra-veineuse au rat de mésoinositol marqué. L'élimination se fait uniquement par voie rénale, les matières fécales se montrant dépourvues de radio-activité.

PROPRIETES PHYSIOLOGIQUES DU MESOINOSITOL :

L'inositol intervient dans un grand nombre de processus physiologiques : on le range classiquement dans le groupe des vitamines B. Il a été reconnu :

1°) Facteur de croissance et facteur anti-alopécie chez les animaux (WOOLLEY (70)).

2°) Facteur lipotropique chez les rats présentant un foie gras et soumis à un régime sans graisses et pauvre en facteurs lipotropiques (BEST, RIDOUT, PATTERSON et LUCAS (10)).

L'inositol prévient l'accumulation d'acides gras et l'augmentation du cholestérol. Une action synergique avec la choline

a été constatée. On peut l'expliquer par le fait que l'inositol et la choline sont des constituants essentiels des phospholipides.

Enfin, un pouvoir anti-cétosique égal au tiers de celui du glucose chez le rat blanc a été reconnu à l'inositol (69).

Son rôle comme agent d'épargne de l'acide ascorbique n'a pu être confirmé chez le rat (ANDERSON, COOTS et HALLIDAY (4)).

ECHANTILLONS UTILISES

Pour préparer la solution d'inositol nécessaire pour constituer la gamme-étalon du test au Neurospora crassa et les solutions pour la chromatographie sur papier, nous avons utilisé le mésoinositol pur des laboratoires ALLARD dont le point de fusion est de 224° et qui, par chromatographie, s'est toujours révélé exempt de scyllitol.

Pour la chromatographie du scyllitol, l'échantillon utilisé nous a été fourni par Monsieur P. MALANGEAU qui l'a lui-même préparé par hydrogénation du scyllo-méso-inosose, lequel est obtenu par oxydation du mésoinositol en présence d'une bactérie oxydante : Acetobacter suboxydans (31). Le scyllo-méso-inosose, par hydrogénation, conduit à un mélange de méso-inositol et de scyllitol, d'où son nom.

PREMIERE PARTIE

DESCRIPTION DES TECHNIQUES UTILISEES.

VALEURS NORMALES DE L'INOSEMIE

Chapitre I

DOSAGE MICROBIOLOGIQUE DU MESO-INOSITOL PAR LE TEST AU "NEUROSPORA CRASSA" MUTANT "INOSITOLLESS"

--

En 1929, le mésoinositol fut reconnu par Miss EASTCOTT (23) comme constituant du complexe que WILDIERS avait dénommé "bios". L'utilisation de la souche de levure Toronto de Saccharomyces cerevisiae permit à WOOLLEY (11) le premier dosage microbiologique de l'inositol dont les propriétés de facteur de croissance complémentaire à l'égard de nombreux microorganismes furent reconnues par la suite. Dans une récente publication, IRANI et GANAPATHI (39) ont montré que le mésoinositol, à la concentration de 0,2 p. cent active la biosynthèse de la benzylpénicilline par Penicillium chrysogenum. En 1944, BEADLE (9) isolait un mutant de Neurospora crassa (Ascomycètes), produit par irradiation ultra-violette, pour lequel le mésoinositol est facteur de croissance essentiel et agit quantitativement. Selon SCHOPFER (58), la spécificité d'action du mésoinositol est beaucoup plus stricte pour Neurospora que pour Eremothecium Ashbyii, autre Ascomycète parasite du cotonnier, décrit par GUILLIERMOND en 1935, vis-à-vis duquel le méso-inositol agit comme facteur complémentaire et renforce l'effet de l'aneurine

et de la biotine. L'irradiation ultra-violette déterminant la naissance du mutant "inositolless" atteint le système génique responsable de la biosynthèse du méso-inositol et détériore les systèmes enzymatiques participant à la déphosphorylation du monophosphate d'inositol et à la réduction du scyllo-méso-inosose par action sur le groupe $C = O$ en position 2. Le scyllo-méso-inosose et le monophosphate d'inositol sont donc inactifs sur ce mutant. Dès le début de ses recherches, SCHOPFER a admis que la présence de 3 OH voisins en cis, jointe à une configuration déterminée, était la condition essentielle de l'action vitaminique du méso-inositol. Le scyllitol avec l'un des OH voisins en trans est inactif. Une substance possédant les 3 OH voisins en cis, mais dont une autre position est substituée, peut être faiblement active (inosose chimique par exemple). Quant à l'inosose biochimique (scyllo-méso-inosose), dont l'hydroxyle central du groupe de 3 est substitué, il ne peut être actif qu'après transformation en méso-inositol. Un dérivé méthylé en 2 du méso-inositol, l'isomytilitol, a été reconnu comme antagoniste du méso-inositol vis-à-vis de Neurospora crassa "inositolless" (SCHOPFER et POSTERNAK (60)). Les mêmes auteurs ont montré l'incorporation de cet antagoniste dans les phospholipides obtenus à partir de cultures inhibées par l'isomytilitol (59). D'autre part, LUCAS (42) indique que le dosage microbiologique du méso-inositol en présence du mutant "inositolless" de Neurospora crassa est plus long, mais plus spécifique et plus exact que le test en présence de la levure Saccharomyces cerevisiae. En résumé, le test au Neurospora crassa permet de doser le méso-inositol à l'exclusion de ses isomères, en particulier du scyllitol qui l'accompagne fréquemment dans l'urine (67 p. cent des cas chez les sujets normaux (43)). On comprend l'avantage de cette technique sur celle qui utilise un dosage spectrophotométrique en lumière ultra-violette après réduction du periodate de Na dans les conditions requises pour oxyder les inositols (AGRANOFF (2)). WEISSBACH (68) préconise un dosage spectrophotométrique basé sur le fait

que le méso-inositol réduit le DPN en présence d'un extrait cellulaire d'Aerobacter aerogenes qui renferme une inositol-déshydrogénase, mais cette dernière est peu stable.

Le test au Neurospora crassa a été décrit en 1948 par SCHOPFER, POSTERNAK et Melle BOSS (61), puis utilisé par JOUANNET (40) et HELLEU (37) (18)

TECHNIQUE DU TEST AU NEUROSPORA

I.- MILIEUX DE CULTURE.

Le milieu de conservation des souches a la composition suivante :

Agar	20 g
PO ₄ KH ₂	2,50 g
SO ₄ Mg, 7 H ₂ O	0,50 g
ClNa	0,10 g
Asparagine	0,10 g
Glucose	5 g
Méso-inositol	40 mg
Moût de bière	100 ml
Eau distillée qsp	1000 ml

Préparation :

Dans un ballon de 1 litre, 20 g d'agar, en paillettes finement coupées, sont délayés avec 500 ml d'eau distillée. Le ballon bouché au coton cardé est stérilisé à l'autoclave 15 minutes à 110° pour obtenir une dissolution aussi complète que possible. On filtre à chaud sur gaze dans un ballon de 1500 ml. La solution des autres produits dans 200 à 300 ml d'eau distillée chaude est ajoutée à la première. D'un autre côté, 200 ml de moût de bière (x) sont stérilisés à l'autoclave 15 minutes à 115°. Après refroidissement, 100 ml du liquide clair surnageant sont ajoutés au ballon contenant déjà en solution l'agar et les autres produits. On complète à 1000 ml

Le moût de bière nous a été fourni par les Brasseries MORITZ 189, rue de Vaugirard, Paris.

avec de l'eau distillée. Le liquide chaud est réparti dans des tubes à essais. Ceux-ci, bouchés au coton cardé sont stérilisés 15 minutes à 115° deux fois à 24 heures d'intervalle.

L'entretien des souches se fait par repiquage sur 2 ou 3 tubes chaque fois, tous les quinze jours environ. Elles sont conservées à l'étuve entre 26 et 30°.

Milieu de culture liquide pour les essais d'inositol :

Ce milieu a la composition suivante :

Glucose	15 g
Nitrate d'ammonium	1 g
PO ₄ KH ₂	2,50 g
SO ₄ Mg, 7 OH ₂	0,50 g
ClNa	0,10 g
Cl ₂ Ca, 6 OH ₂	0,10 g
Cl ₃ Fe	5 mg
SO ₄ Zn, 7 OH ₂	2 mg
d-l-Biotine	2 µg
Eau distillée Q.S.P.	1000 ml

On préparera également une solution de tartrate d'ammonium à 2,5 g pour 1000 ml.

L'apport de méso-inositol à ce milieu liquide qui en est exempt est indispensable au développement du thalle de Neurospora.

II.- DOSAGE :

La culture de Neurospora crassa sur moût-agar ayant au minimum 4 jours et au maximum 27 jours peut être utilisée pour le dosage. On prélève avec une anse de platine une petite quantité de spores rosées à la partie supérieure de la gélose et on délaie ces spores dans 40 ml d'eau distillée stérile contenus dans une fiole d'Erlenmeyer où l'on aura pris soin d'introduire un barreau de métal magnétique. On pourra ainsi pendant toute la période d'ensemencement procéder à l'homogénéisation de la suspension de spores par agitation magnétique,

de manière à introduire sensiblement la même quantité de spores dans chaque fiole.

Après stérilisation de toutes les solutions pendant 15 minutes à 115° C à l'autoclave, on disposera dans les fioles d'Erlenmeyer stériles de 100 ml l'expérience de la manière suivante :

Tableau 1

Dosage du méso-inositol par le test au Neurospora crassa

	Numéro de la fiole d'Erlenmeyer	Milieu liquide	Sol. tartrate d'ammonium à 25 %	Sol. à 1/100000 d'inositol	Inositol en μ g	Solution à doser (en quantités comprises entre 5 et 30 μ g)	Suspension Neurospora crassa "inositolless"
Gamme témoin d'Inositol	1	25 ml	0,4 ml	0 ml	0		1 ml
	2			0,5	5		
	3			0,8	8		
	4			1	10		
	5			1,2	12		
	6			1,5	15		
	7			2	20		
	8			2,5	25		
	9			3	30		
Solution A à doser	10					0,5	
	11					1	
	12					2	
Solution B à doser	13					0,5	
	14					1	
	15					2	
Solution C à doser	16					0,5	
	17					1	
	18					2	

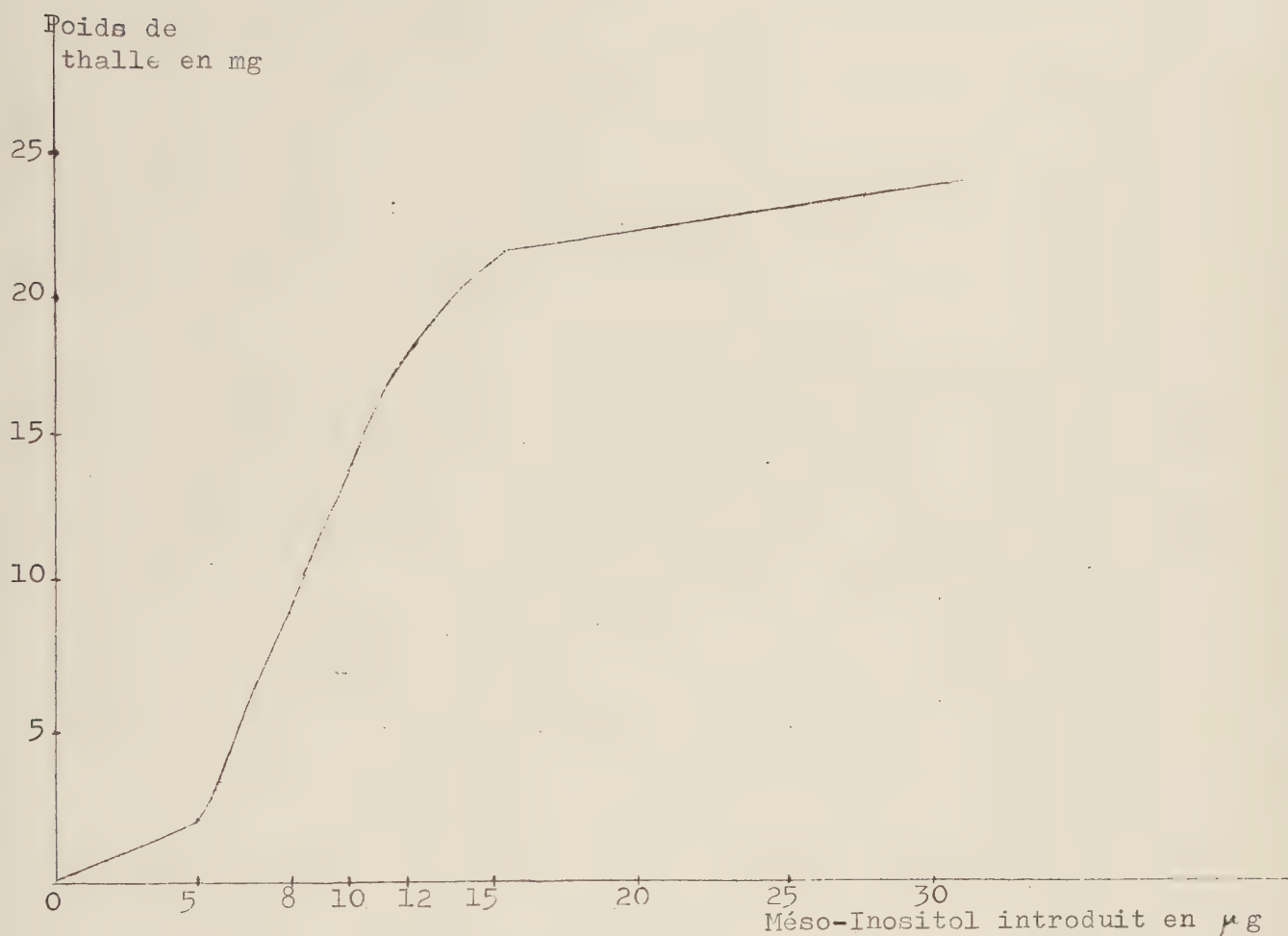
Nous avons utilisé un dispositif permettant d'immerger à la fois 32 fioles d'Erlenmeyer dans l'eau d'un bain marie à température constante (muni d'un thermostat réglé à 29° 8), ce qui rendait possible le dosage de l'inositol au cours de la même expérience dans 6 à 7 échantillons d'urines, compte tenu des récipients réservés à la gamme témoin, renfermant de 0 à 30 μ g de méso-inositol, indispensable à chaque série de dosages. On peut également utiliser une étuve électrique réglée à 30°, à condition qu'elle soit assez grande pour assurer l'homogénéité de la température à laquelle sont exposées toutes les fioles ensemencées.

Au bout de 4 jours à l'abri de la lumière, il se développe des cultures plus ou moins abondantes, de coloration blanc-rosé. Si la culture est peu importante, le thalle est fragmentaire et adhère au fond du récipient, le milieu de culture surnageant restant limpide. Si la culture est plus importante, elle recouvre la surface du liquide et forme une pellicule plus ou moins épaisse. Chaque thalle est recueilli séparément sur deux filtres préalablement équilibrés et numérotés placés dans un petit entonnoir de Büchner relié à une trompe à vide. Après élimination du liquide nutritif, les filtres sont lavés à plusieurs reprises à l'eau distillée, puis séchés à l'étuve entre 90 et 100° pendant une heure environ. Il faut veiller à éviter la carbonisation des filtres qui entache d'erreur la pesée. Après refroidissement dans un dessiccateur, les thalles sont pesés.

Il suffit, sur un même graphique, de tracer la courbe représentant les poids de thalle en mg en fonction des diverses concentrations en μ g de méso-inositol de la gamme témoin et d'y reporter les poids de thalle fournis par les diverses prises d'essai des solutions à doser. La courbe type présente l'aspect suivant (figure 2) :

Figure 2

COURBE TYPE DE CROISSANCE DE NEUROSPORA CRASSA
EN FONCTION DE QUANTITES CROISSANTES DE MESO-INOSITOL



On observe trois parties dans la courbe de croissance :

1°) une première partie (de 0 à 5 μ g de méso-inositol) où la croissance de Neurospora est nulle.

2°) Une deuxième partie (de 5 à 15 μ g de méso-inositol) où la croissance augmente rapidement et proportionnellement. C'est cette partie que l'on utilise le plus souvent pour le dosage.

3°) Une troisième partie (au-delà de 15 à 20 μ g de méso-inositol). La courbe s'infléchit vers l'horizontale, indiquant une croissance maximum de Neurospora.

La limite supérieure de la partie médiane utilisable pour le dosage peut se situer vers 30 μ g. Nous l'avons observé pour quelques-unes de nos courbes de croissance.

En raison de ces variations, il est absolument indispensable pour chaque dosage de faire une gamme témoin.

Nous avons observé des irrégularités pour certaines courbes de croissance pratiquement inutilisables : poids de thalle trop faibles pour l'ensemble de la gamme ou poids élevé de thalle pour 10 μ g de méso-inositol, indiquant un maximum de croissance dès ce point de la gamme. Nous n'avons jamais constaté de développement de la culture en l'absence de méso-inositol et, une fois seulement, il s'est produit une contamination, avec turbidité insolite du milieu liquide dans les récipients contenant 5 μ et 10 μ g de méso-inositol. Les irrégularités observées dans la courbe de croissance n'ont aucun rapport avec l'âge de la souche utilisée, qui doit être compris entre 4 et 21 jours. Malgré les repiquages fréquents sur moût-agar, nous avons dû, tous les six mois environ, renouveler nos souches^(*).

En opérant le plus aseptiquement possible, avec des souches convenables, nous avons obtenu des résultats satisfaisants, que nous avons vérifiés en renouvelant les tests et, bien que le dosage microbiologique implique une marge d'erreur qui peut atteindre dix pour cent, il a l'incontestable avantage de la spécificité.

-:-

(*) Nous exprimons nos respectueux remerciements à M. le Professeur W.H. SCHOPFER, qui nous a fourni obligeamment les souches de *Neurospora crassa* "inositolless" : ATCC 9683.

Chapitre 2

CARACTERISATION DES INOSITOLS PAR CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER

Nous avons utilisé la technique de chromatographie descendante mise au point par P. MALANGEAU (43).

I.- PREPARATION DES CHROMATOGRAMMES.

On utilise le papier d'Arches 1030. Les gouttes de solutions à chromatographier sont déposées à l'aide de pipettes constituées par la partie capillaire de tubes étirés régulièrement. On dépose les taches en enlevant la pipette dès que l'aréole humide atteint 6 mm de diamètre, ce qui donne un diamètre final de 8 mm. On répartit ainsi 1 ml d'eau distillée en 650 à 680 taches, correspondant à 1,5 mg d'eau ou de liqueur aqueuse. On réalise sur le même chromatogramme une gamme étalon constituée par 7 taches renfermant des quantités croissantes de méso-inositol comprises entre 5 et 40 μg . Au-delà de 40 μg , on observe une traînée de méso-inositol à partir de la ligne de départ.

II.- DEVELOPPEMENT

Le solvant utilisé est le suivant :

Méthanol (99°5)	900 ml
Eau distillée	100 ml

Après exposition de 18 heures à la température du laboratoire dans l'enceinte saturée de ce solvant, la durée de développement en chromatographie descendante est de 90 minutes.

III.- REVELATION.

La réaction de caractérisation de l'inositol indiquée en 1906 par G. MEILLERE consistait à évaporer à sec dans une capsule quelques ml de solution aqueuse d'inositol en présence d'une solution nitrique de nitrate mercurique (première phase d'oxydation selon GALLOIS), puis à reprendre le produit de la réaction par l'acide acétique cristallisable et quelques gouttes d'une solution à 10 p. 100 d'un acétate alcalino-terreux; on obtenait une coloration rouge éosine très brillante due à la formation de sels alcalino-terreux des produits de l'oxydation nitrique. C'est cette réaction que nous utilisons selon la technique de P. MALANGEAU pour la révélation des chromatogrammes. Comme elle est entravée en présence de chlorures, elle ne doit s'effectuer que sur des extraits urinaires désionisés. De plus, étant donné que la coloration n'apparaît qu'après évaporation à sec, on ne peut songer à éluer par l'eau les spots obtenus après révélation. La coloration n'est soluble ni dans l'eau, ni dans les solvants organiques usuels.

Les différents produits d'oxydation ont été identifiés par chromatographie sur papier, à l'aide du solvant de Partridge, en utilisant, pour la révélation, soit les propriétés réductrices, soit les sels colorés en lumière visible, soit la fluorescence en lumière ultra-violette (P. BALATRE et M. TRAISNEL (7)).

On emploie les réactifs suivants :

Réactif I (Réactif de G. MEILLERE dilué à 1/3 pour l'usage)

Oxyde mercurique rouge	5 g
Acide nitrique d = 1,38	5 g
Eau distillée Q.S.P.	100 ml

Réactif II

Solution aqueuse d'acétate de Baryum à 10 p. 100	15 ml
Acide acétique pur Q.S.P.	100 ml

On effectue sur les papiers à révéler une pulvérisation régulière du réactif I à l'aide d'un vaporisateur pour chroma-

tographie. Les papiers sont alors portés pendant 10 minutes à l'étuve à une température comprise entre 85 et 90°. (sans dépasser 100°). On pulvérise à nouveau le réactif n° I et on sèche à l'étuve 5 minutes.

On soumet ensuite les papiers à 5 pulvérisations successives du réactif n° II, alternant avec des séjours de 4 minutes à l'étuve entre 85 et 90°.

Les taches révélatrices des inositols apparaissent alors plus ou moins rapidement selon la concentration de ceux-ci, en général à partir de la troisième pulvérisation.

Il faut veiller à commencer la pulvérisation du réactif à 3cm au moins au-dessus de la ligne de départ. Si l'on commence la pulvérisation sur la ligne de départ, la tache révélatrice du scyllitol a tendance à se déplacer d'un cm au-dessus de cette ligne.

IV.- INTERPRETATION DES RESULTATS.

Les deux isomères, méso-inositol et scyllitol sont nettement séparés sur les chromatogrammes : les taches correspondant au scyllitol sont situées sur la ligne de départ, celles correspondant au méso-inositol se retrouvent plusieurs cm au-dessous. On peut évaluer approximativement les quantités de méso-inositol contenues dans les solutions de titre inconnu, en comparant la surface et l'intensité des taches qu'elle fournit avec celles de la gamme-témoin obtenues dans les mêmes conditions opératoires de développement chromatographique et de révélation (importance d'une température et d'un temps de chauffage identiques).

Chapitre 3

PREPARATION DES EXTRAITS URINAIRES PURIFIES

-:-

L'urine est débarrassée des substances ionisables qu'elle contient par contacts successifs avec deux sortes de résines.

1°) Permutite "50", résine polystyrène sulfonée, à caractère fortement acide qui, selon P. BOULANGER et G. BISERTE (12), fixe les cations, l'urée, la plupart des acides aminés et les polypeptides de faible poids moléculaire.

2°) Déacidite "300", dont le caractère fortement basique est dû aux ions ammonium quaternaire fixés sur un réseau de polystyrènes, qui retient tous les anions, les aminoacides dicarboxyliques (G. BISERTE et P. BOULANGER (11)) et le glucose.

Le passage sur résines prive l'urine d'éléments susceptibles de se comporter en facteurs de croissance complémentaires dans le test au Neurospora crassa (acides aminés en particulier) ou en inhibiteurs. Cette opération est indispensable, comme nous avons pu le vérifier au cours de deux dosages pratiqués parallèlement sur deux échantillons de la même urine, dont l'un était désionisé et l'autre non désionisé. La croissance de Neurospora était plus importante en présence de l'urine non désionisée qu'elle ne l'était en présence des mêmes volumes de prise d'essai de l'urine désionisée.

PREPARATION ET ENTRETIEN DES COLONNES.

Les techniques de préparation et d'entretien des colonnes sont décrites dans la thèse de P. MALANGEAU (43).

Nous avons utilisé des colonnes de 30 à 35 mm de diamètre et de 50 à 60 cm de haut, contenant chacune 200 g de résine sèche. Après tamisage pour ne conserver que les particules de dimensions moyennes, les résines sont laissées en contact avec l'eau pendant 12 à 24 heures. La Permutite "50" est traitée 3 fois de suite par l'acide chlorhydrique environ 5 N, puis par lavages à l'eau, tandis que la Déacidite "300" est traitée alternativement par l'acide chlorhydrique environ normal, puis par la soude N/2 et enfin par d'abondants lavages à l'eau. Pour l'usage, les colonnes de Permutite, une fois garnies, sont préparées en faisant passer goutte à goutte un litre d'acide chlorhydrique officinal dilué au 1/5, puis en lavant, avec 5 litres d'eau distillée au même rythme. Les colonnes de Déacidite "300" sont traitées par 1 litre de lessive de soude officinale diluée au 1/8, puis lavées avec 10 litres d'eau distillée s'écoulant goutte à goutte. Après chaque extraction urinaire, les colonnes sont aussitôt régénérées de la même façon. Elles sont conservées sous l'eau distillée.

Chapitre 4

MODE OPERATOIRE SUIVI POUR LA DETERMINATION DE L'INOSURIE

-:-

I.- RECOLTE DES URINES.

On recueille la totalité des urines de 24 heures et on note la diurèse. Il ne faut ajouter aucun antiseptique, de crainte d'inhiber la croissance de Neurospora.

II.- DESIONISATION DES URINES.

100 ml d'urines filtrées limpides sont passées quantitativement sur une colonne de Permutite "50" au rythme de 15 gouttes à la minute. Après un contact de 20 minutes, l'urine est passée une seconde fois sur la colonne de résine. Après nouveau contact de 20 minutes et nouveau passage de l'urine, la colonne est lavée avec 250 ml d'eau distillée. Le liquide, recueilli dans une fiole d'Erlenmeyer d'un litre, est fortement acide ($\text{pH} < 1$), presque toujours incolore et limpide. Il est quelquefois jaune pâle ou légèrement trouble.

Le contenu de la fiole d'Erlenmeyer est transféré dans une capsule Pyrex à fond plat, traité par un léger excès d'ammoniaque pour éviter les pertes en inositol et concentré au bain-marie bouillant jusqu'à 80-100 ml environ, ce qui chasse l'excès d'ammoniaque libre. On peut également utiliser un évaporateur rotatif, fonctionnant sous vide. Le liquide concentré, jaune brun, est filtré, le cas échéant, pour séparer de fines aiguilles noires qui se sont formées par refroidisse-

ment. Le filtrat est passé quantitativement sur une colonne de Déacidite "300". On opère de la même manière que ci-dessus, mais en effectuant le lavage avec 500 ml d'eau distillée. La totalité des liquides est évaporée à siccité au bain-marie dans une capsule de Pyrex.

Le résidu est repris en 3 fois par 2 ml d'eau distillée et transvasé dans un petit flacon du type flacon à antibiotiques préalablement taré et numéroté. On évapore à sec au bain-marie et on termine l'évaporation dans un dessiccateur à vide chargé de silicagel.

On détermine par pesée l'extrait sec désionisé renfermant le méso-inositol.

Les extraits urinaires désionisés sont plus ou moins teintés de jaune pâle à jaune brunâtre et ont un aspect cristallin ou "résineux". On les conserve fort bien à la glacière.

III.- DOSAGE MICROBIOLOGIQUE ET ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE.

On prépare à partir des extraits urinaires des solutions de titre connu et stérilisées. La quantité optimum à apporter pour la croissance de Neurospora crassa est de 10 μ g par ml.

L'extrait désionisé (correspondant à 100 ml d'urines) est repris par 1 ml d'eau distillée exactement mesuré. Cette solution est divisée en 2 fractions égales de 0,5 ml.

La première fraction sert à l'évaluation chromatographique du taux de l'inosurie par comparaison avec une gamme-témoin de quantités croissantes de 5 à 40 μ g de méso-inositol. On peut également différencier le méso-inositol de son isomère le scyllitol. L'évaluation chromatographique permet de prévoir la dilution nécessaire pour le dosage microbiologique.

Celui-ci est effectué en préparant une dilution aqueuse stérile au 1/100 de la deuxième fraction de l'extrait urinaire (dilution correspondant au volume urinaire primitif) pour les urines normales. Des prises d'essai de 0,5, 1 et 2 ml de cette solution diluée d'extrait sont ajoutées au milieu de culture

additionné d'une suspension aqueuse de spores de Neurospora crassa. Parallèlement, on ajoute dans une série de fioles identiques de milieu inoculé des volumes croissants connus de solution de méso-inositol stérile (de 0 à 30 μ g) (voir le tableau n° 1 p. 15) et la technique exposée au chapitre 1). Comme nous le signalons plus loin, des dilutions de l'extrait plus importantes sont nécessaires pour la détermination de l'inosurie chez les diabétiques et les néphritiques.

REMARQUE :

L'urine semble bien renfermer une forme combinée de l'inositol. Nous avons pu constater dans quatre échantillons d'urines une augmentation de la teneur en inositol libre après contact pendant 24 H à 37° à pH 4 à 5 avec 1 ml de suc digestif d'Helix Pomatia renfermant 100.000 unités Fishman glucuronidasiques et 50.000 unités sulfatasiques. Nous avons vérifié par chromatographie sur papier et par le test au Neurospora que l'inositol n'entrait pas dans la composition de ce suc dont les enzymes très divers ont été étudiés par P. BASTIDE (8). Nos résultats figurent dans le tableau 2.

Tableau 2

DETERMINATION DE L'INOSURIE EN mg par litre
AVANT ET APRES HYDROLYSE PAR LE SUC D'HELIx POMATIA

- Test au Neurospora-

Sujet	avant hydrolyse	après hydrolyse
1	6	11,5
2	12	16
3	10	19
4	13	17

L'inositol peut exister dans l'urine sous l'aspect d'un ester phosphorique. A. DESJOBERT (22) ayant montré que l'hydrolyse de cet ester est obtenue avec le meilleur rende-

ment par chauffage prolongé à pH 4,1 et la concentration de l'effluent de la colonne de Permutite "50" s'effectuant à pH légèrement alcalin après addition d'ammoniaque, l'ester monophosphorique de l'inositol éventuellement présent dans l'urine, non hydrolysé, est fixé par la résine anionique : Déacidite "300".

Quoi qu'il en soit, au cours de ce travail, nous ne nous sommes préoccupée de doser que le méso-inositol libre, sans hydrolyse préalable des formes liées de ce cyclitol.

Chapitre 5

DETERMINATION DE L'INOSITOL SANGUIN VALEURS NORMALES DE L'INOSEMIE

-:-

Dans les recherches qui suivent, afin de déterminer si l'élévation de l'inosurie reconnue dans certaines affections avait une cause métabolique par augmentation de l'inositol sanguin ou provenait d'un trouble exclusivement rénal, nous avons été amenée à procéder à la mesure de l'inosémie.

Nous avons mis au point une technique de dosage de l'inositol libre du plasma, utilisant, comme dans le cas de l'urine, le test au "Neurospora crassa" et la chromatographie sur papier.

I.- DESCRIPTION DE LA TECHNIQUE UTILISEE.

- Principe : L'inositol plasmatique est séparé des protéines par dialyse. Le liquide de dialyse contenant en plus de l'inositol les sels et le glucose, on procède à son passage sur colonnes de résines échangeuses d'ions. Après concentration des effluents, l'extrait obtenu sert au dosage de l'inositol par le test au "Neurospora crassa".

- Mode opératoire : On effectue la dialyse, dans un sac de cellophane, de 5 ml de sérum ou de plasma hépariné ou oxalaté (éviter le plasma fluoré en raison des propriétés antiseptiques de l'ion Fluor) contre 100 ml d'eau distillée dans une éprouvette à 4° durant 24 heures. Une nouvelle dialyse de 24 heures en changeant l'eau du dialyseur n'apporte qu'une

quantité très négligeable d'inositol. Pour la désionisation du dialysat, on utilise 2 microcolonnes, l'une de Permutite "50", l'autre de Déacidite "300". Le poids de résine mis en oeuvre est basé sur le fait que, pour la prise d'essai de 100 ml d'urines renfermant environ 2 g de sels, on employait 200 g de résine. Pour les 5 ml de plasma, qui renferment environ 0,046 g de sels (M. POLONOVSKI indique un taux de 9,30 g de cendres par litre de plasma), le poids de résine sèche à utiliser sera donc de 4,60 g. Afin de disposer d'une marge de sécurité suffisante, nous avons pris 6 g de résine sèche pour chaque colonne. Ces microcolonnes de 1,5 cm de diamètre et 25 cm de longueur environ sont préparées et régénérées après usage à l'aide de 20 ml de solution de ClH au 1/5 pour la Permutite et 20 ml de solution de NaOH pour la Déacidite. La colonne de Permutite est lavée avec 100 ml d'eau distillée et la colonne de Déacidite avec 200 ml d'eau distillée. Une ampoule à décantation de 250 ml est fixée au sommet de la colonne par un bouchon de caoutchouc et la vitesse de l'écoulement est réglée par le robinet placé à l'extrémité inférieure.

Les 100 ml de dialysat sont passés goutte à goutte sur la microcolonne de Permutite. L'effluent est soumis à un deuxième passage sur la même colonne, puis cette dernière est lavée avec 250 ml d'eau distillée. L'effluent est amené à pH légèrement alcalin à l'aide de 2 ou 3 gouttes de NH_4OH officinale. Après concentration à un volume de 100 ml environ dans un évaporateur rotatif "flash evaporator" sous pression réduite, la liqueur est passée comme précédemment sur la microcolonne de Déacidite "300" qui est lavée ensuite à l'aide de 500 ml d'eau distillée. L'effluent est concentré d'abord à l'aide de l'évaporateur rotatif, puis dans une capsule en Pyrex au bain-marie de façon à pouvoir reprendre le résidu sec par 5 ml d'eau distillée exactement mesurés. La solution obtenue est introduite dans un petit flacon, type flacon à

antibiotiques pour la stérilisation 15 minutes à 115° à l'autoclave. Pour le test au Neurospora, on introduit respectivement dans 3 fioles d'Erlenmeyer 0,5, 1 et 2 ml de la solution stérile d'inositol plasmatique. Cette solution peut servir également à la chromatographie sur papier des inositols.

II.- TAUX D'INOSEMIE RENCONTRES CHEZ LES SUJETS NORMAUX :

Chez 5 adultes normaux, nous avons obtenu des taux d'inositol plasmatique de 5, 8, 5, 11 et 9 mg par litre. Ces taux sont comparables à ceux obtenus par W.H. DAUGHADAY et J. LARNER (20), à l'aide d'une méthode de dosage turbidimétrique après croissance de la levure Saccharomyces carlsbergensis. D.A. NIXON (49), utilisant la levure Kloeckera brevis, a constaté que le taux d'inosémie était normal chez la femme enceinte, mais que celui du sang foetal était accru (75 mg par litre).

Par ailleurs, P. MALANGEAU (43) a estimé, par chromatographie sur papier, la teneur du plasma en méso-inositol libre chez l'Homme à la valeur de 4,5 mg par litre au minimum.

Nous avons également mesuré l'inositol des hématies dans 3 échantillons de sang humain. Après lyse de 5 ml de purée globulaire dans 50 ml d'eau distillée, le liquide obtenu est dialysé contre un litre d'eau distillée pendant 24 heures à 4°. Le dialysat est concentré au volume de 100 ml sous pression réduite vers 40° et traité ensuite comme les 100 ml de dialysat du plasma. Dans 2 cas sur 3, les hématies sont un peu plus riches en inositol que le plasma qui les baigne (Tableau 3)

Tableau 3
INOSITOL PLASMATIQUE ET GLOBULAIRE en mg/litre

	Plasma	Globules
Sujet A	5	8,5
B	6,5	9,5
C	4	4

DEUXIEME PARTIE

ETUDE DE L'ELIMINATION URINAIRE DU MESO-INOSITOL AU COURS DU DIABETE SUCRE ET DU DIABETE INSIPIDE

HISTORIQUE

-:-

Le problème de la caractérisation du méso-inositol dans les urines de diabétiques a été abordé dès 1856 par CLOETTA. En 1857, les recherches de NLWKOMM lui permirent de retrouver l'inositol dans l'urine d'un diabétique. Peu après, LEBERT et VOHL fournissant des observations chez des diabétiques glycosuriques. Parmi les premiers auteurs qui abordent la question, GALLOIS en 1864, GEORGES en 1906 montrent la présence de l'inositol dans quelques urines de diabétiques. GALLOIS utilise l'acétate basique de Plomb pour entraîner l'inositol des urines pathologiques et le caractérise par la réaction colorée en présence de nitrate mercurique, mais, si la solution est souillée de glucides, la sensibilité de la réaction est atténuée et on est pratiquement obligé d'opérer sur des cristaux préalablement isolés. En 1909, G. MEILLERE et P. FLEURY (47) constatent que la précipitation de l'inositol par le sous-acétate de Plomb est contrariée par la présence d'un excès de sucre, l'emploi du sous-acétate ammoniacal ayant l'inconvénient de provoquer l'entraînement de la totalité des glucides. Ils opèrent en liqueur suffisamment diluée pour atténuer le pouvoir dissolvant des sucres sur le précipité

inosito-plombique et, pour caractériser l'inositol, une fois celui-ci isolé, ils ont recours à l'action successive du nitrate mercurique et de l'acétate de Strontium. G. MEILLERE et P. FLEURY arrivent à conclure que l'élimination de l'inositol accompagne toujours la glycosurie. Après la mise au point par P. FLEURY et J. LANGE (30) d'une technique de dosage basée sur l'oxydation de l'inositol par periodique, le dosage en présence de glucides reste néanmoins longtemps sans solution entièrement satisfaisante. Les glucides sont plus ou moins entraînés en même temps que l'inositol. On s'est contenté longtemps d'isoler l'inositol par cristallisations successives et de le peser. Deux solutions ont été envisagées pour détruire sélectivement les glucides dans un mélange glucides-inositol : une méthode biochimique appliquée par PLATT et GLOCK (52) qui utilisaient la fermentation à l'aide d'une race particulière de levure ne renfermant pas d'inositol; une méthode chimique, étudiée par P. FLEURY et Melle M. JOLY en 1937 (29), consistant à éliminer les oses par action de la magnésie à 100° qui les détruit en respectant les cyclitols, mais aussi, il est vrai, les polyols linéaires. En 1948, RECOULES (56) met au point, pour le dosage de l'inositol dans l'urine en présence de glucides, une technique qui nécessite une suite d'opérations laborieuses. Après entraînement de l'inositol et des glucides par la baryte alcoolique, on opère la destruction des glucides par la magnésie au bain-marie à 100° ; puis, comme les produits résultant de l'action de la magnésie sur les glucides réduisent eux aussi l'acide periodique et donnent un dégagement de gaz carbonique important, on extrait la majorité des "glucides résiduels" par le mélange alcool-éther acide. Après oxydation de l'inositol par l'acide periodique pendant 4 heures, on effectue un dosage manométrique "différentiel" de l'inositol, la forme de la courbe de dégagement de gaz carbonique permettant de distinguer l'inositol des "glucides résiduels", dont la courbe est très différente.

A. RECOULES rencontre chez les diabétiques des taux d'inositol compris entre 137 et 843 ng par litre mais, comme l'a montré Mme FIEVET-GUINARD (25), l'acide periodique agit de façon identique sur les divers inositols isomères.

En 1954, DAUGHADAY et LARNER (21) ont recours à un dosage microbiologique du méso-inositol. Après traitement de l'urine diluée par l'acétate de Plomb à saturation et action de l'ammoniaque sur le surnageant, ils obtiennent un précipité d'où ils éluent l'inositol par de l'eau acidifiée à $\text{pH} = 3$ par l'acide sulfurique. L'éluat, amené à une dilution telle que la concentration de l'inositol soit comprise entre 2 et 8 μg par ml, est désionisé au contact d'une résine, la deeminite et, sur le filtrat, on mesure la turbidité due à la croissance de la levure: Saccharomyces carlsbergensis, en présence de méso-inositol. Ces auteurs ont examiné sept cas de diabète sucré.

Le protocole opératoire, précédemment décrit dans la première partie, nous a permis d'entreprendre systématiquement l'étude de l'élimination urinaire du méso-inositol chez 31 sujets atteints de différents types de diabète sucré.

Chapitre 1

ETUDE DE L'EXTRACTION URINAIRE ET DU DOSAGE MICROBIOLOGIQUE DU MESO-INOSITOL CHEZ LES DIABETIQUES

:-

Avant d'appliquer la technique d'extraction urinaire du méso inositol aux urines de diabétiques, il nous a paru nécessaire d'étudier le comportement des résines échangeuses d'ions vis-à-vis de solutions titrées de méso-inositol et de glucose. La Déacidite "300" fixe la glucose. PHILLIPS et POLLARD (51) ont constaté une dégradation des hexoses par les résines échangeuses d'ions du type IRA 400 OH: formation d'acide glycolique et de 4 autres acides non identifiés. Les résines fortement basiques peuvent dégrader les hexoses.

Nous avons voulu vérifier que la rétention du glucose ne s'accompagnait pas de celle du méso-inositol et déterminer la capacité de rétention de la colonne de Déacidite vis-à-vis du glucose.

I.- ETUDE DU COMPORTEMENT DES RESINES ECHANGEUSES D'IONS VIS-A-VIS DE SOLUTIONS TITREES DE MESO-INOSITOL ET DE GLUCOSE.

Nous avons utilisé 3 solutions titrées de méso-inositol et de glucose :

- a) Solution A renfermant 30 mg p. 1000 ml de méso-inositol
- b) Solution B renfermant 30 mg p. 1000 ml de méso-inositol
+ 10 g p. 1000 ml de glucose
- c) Solution C renfermant 30 mg p. 1000 ml de méso-inositol
+ 30 g p. 1000 ml de glucose.

100 ml de chacune de ces 3 solutions ont été passés

sur Permutite, puis sur Déacidite . Nous avons opéré exactement selon la technique d'extraction quantitative de l'inositol précédemment décrite. Dans les liquides effluents, évaporés à sec et repris par 100 ml d'eau distillée, nous avons :

1°) dosé l'inositol par le test au Neurospora.

2°) effectué la recherche du pouvoir réducteur vis-à-vis de la liqueur de Fehling afin de contrôler la rétention du glucose par la Déacidite "300".

1°) Contrôle de l'élution de l'inositol en présence de glucose en solution pure.

Les résultats sont consignés dans le tableau 4.

Tableau 4

DOSAGE DE L'INOSITOL CONTENU DANS LES SOLUTIONS GLUCOSE-INOSITOL
APRES PASSAGE SUR PERMUTITE ET SUR DEACIDITE

Concentration en inositol en mg/l des solutions essayées	Concentration en glucose en g/l des solutions essayées	Inositol retrouvé en mg/l (x) %
30		28 (1) 93
30	10	28 (2) 93
30	30	27 (3) 90

(x) Dosages microbiologiques par le test au Neurospora crassa.

Etant donné la marge d'imprécision obligatoire de la méthode microbiologique qui peut être de l'ordre de 10 pour 100, on peut considérer que les 3 chiffres (1, 2 et 3) sont superposables et que le glucose ne gêne pas l'élution de l'inositol.

Après le passage des trois solutions et les lavages à l'eau distillée classiques, nous avons épuisé par 100 ml d'eau distillée chacune des six colonnes utilisées pour l'extraction de l'inositol, afin de constater si les résines retiennent davantage l'inositol quand la solution est chargée en glucose. Après

passage des 100 ml d'eaux de lavages supplémentaires, l'effluent correspondant à ces 100 ml est évaporé au bain-marie et repris par 5 ml d'eau distillée. On prélève, dans une fiole d'Erlenmeyer de 100 ml, 3 ml de cette solution, qui après stérilisation, seront utilisés pour doser l'inositol par le test au Neurospora. Les 2 ml restants permettent de rechercher le pouvoir réducteur vis-à-vis de la liqueur de Fehling qui est nul dans tous les cas. Les résultats sont rapportés dans le tableau 5 .

Tableau 5

QUANTITES D'INOSITOL ELUEES PAR LES 100 ml D'EAUX DE LAVAGES SUPPLEMENTAIRES APRES PASSAGE DES SOLUTIONS A, B et C ET LAVAGES CLASSIQUES

	après passage de la solution A (30 mg/l d' inositol)	après passage de la solution B (30 mg/l d' inositol 10 g/l de glucose)	après passage de la solution C (30 mg/l d' inositol 30 g/l de glucose)
sur Permutite	0	0	53 µg
sur Déacidite	33 µg ^x	15 µg	22 µg
Total	33 µg	15 µg	75 µg
x. Dosages par le test au <u>Neurospora</u> .			

L'examen de ce tableau montre que la quantité d'inositol éluee par les 100 ml d'eaux de lavages supplémentaires représente respectivement 0,8 p. 100 ; 0,5 p. 100 ; 2,5 p. 100 de l'inositol contenu dans 100 ml de chacune des trois solutions A, B, C. Ces quantités d'inositol sont négligeables par rapport à la totalité de l'inositol passé sur colonnes qui est de 3 mg dans les 3 cas. On peut admettre qu'un lavage plus abondant des colonnes permettrait une élution pratiquement totale de l'inositol.

2°) Contrôle de la rétention du glucose par la Déacidite "300".

Après passage sur Permutite "50" et sur Déacidite "300" de 100 ml des 3 solutions A, B et C, les liquides effluents évaporés et ramenés à 100 ml ne présentent plus ni pouvoir réducteur vis-à-vis de la liqueur de Fehling, ni pouvoir rotatoire. Ceci montre que les 200 g de Déacidite contenus dans la colonne peuvent fixer jusqu'à 3 g de glucose en solution pure. Nous avons recommencé l'expérience avec 100 ml de solutions renfermant respectivement 40 et 50 g pour 1000 de glucose. Nous avons constaté que les effluents étaient dépourvus de pouvoir réducteur.

II.- ETUDE DU COMPORTEMENT DE RESINES ECHANGEUSES D'IONS VIS-A-VIS D'URINES RENFERMANT DU GLUCOSE.

1°) Contrôle de la rétention par les résines de l'inositol après passage d'une urine renfermant du glucose.

Nous avons envisagé le cas d'une urine renfermant 3,50 g de glucose par litre. Le chiffre d'inosurie a été trouvé ultérieurement égal à 150 mg par litre par le test au Neurospora crassa. Après passage de 100 ml de cette urine et des 250 ml d'eaux de lavages classiques, la colonne de Permutite est lavée avec 100 ml d'eau distillée. L'effluent obtenu est évaporé à sec et repris par 5 ml d'eau distillée. Nous avons alors observé le développement du thalle de Neurospora crassa en présence de 1 et 2 ml de cette solution.

Nous avons opéré de la même façon pour la Déacidite "300" qui, après les lavages classiques, a été épuisée avec 100 ml d'eau distillée.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 6.

Tableau 6

QUANTITES D'INOSITOL ELUEES PAR LES 100 ml D'EAUX DE LAVAGES
SUPPLEMENTAIRES APRES PASSAGE D'UNE URINE DE DIABETIQUE ET
LAVAGES CLASSIQUES.

Résines	Inositol contenu dans les 100 ml d'eaux de lavages des résines
Permutite "50"	90 μ g
Déacidite "300"	45 μ g
Total	135 μ g

Il est facile de voir que la quantité d'inositol retenue par les colonnes de Permutité et de Déacidite est pratiquement négligeable par rapport à la totalité de l'inositol de l'urine, c'est-à-dire 15 mg contenus dans les 100 ml d'urine, que nous avons utilisés pour l'extraction de l'inositol.

2°) Contrôle de l'élution de l'inositol urinaire en présence de glucose.

Afin de constater si la présence de glucose dans l'urine entraîne une perturbation du dosage de l'inositol par le test au Neurospora, nous avons déterminé l'inosurie dans un échantillon d'urine normale et dans un autre échantillon de la même urine à laquelle nous avons ajouté 30 g pour 1000 de glucose.

Nous avons obtenu les résultats suivants (tableau 7)

Tableau 7

DOSAGE DE L'INOSITOL DANS DEUX ECHANTILLONS DE LA MEME URINE,
DONT L'UN EST SURCHARGE EN GLUCOSE.

Echantillon examiné	Volumes des prises d'essai en ml	Poids de thalle en mg	Inositol trouvé dans la prise d'essai en μg^x	Inositol trouvé en mg par litre de solution
Urine normale désionisée	0,5	0		
	1	16,5	7,5	7,5
	2	24,5	17	8
Urine + glucose désionisée	1,5	0		
	1	13,5	7	7
x Dosage par le test au <u>Neuròspora crassa</u> .				

La présence du glucose qui se fixe sur la Déacidite "300" ne perturbe donc pas l'élution de l'inositol.

D'ailleurs la recherche du pouvoir réducteur effectué sur la solution de l'extrait désionisé de l'urine surchargée en glucose est demeurée négative.

III.- APPLICATION DU TEST AU NEUROSPORA CRASSA AU DOSAGE DU MESO-INOSITOL DANS LES URINES DE DIABETIQUES.

Au cours de l'extraction du méso-inositol des urines de diabétiques, nous avons eu la surprise d'observer que les extraits désionisés d'urines très riches en glucose présentaient un léger pouvoir réducteur mesurable avec le réactif cupro-alcalin. Certaines substances n'étaient pas retenues par la Déacidite "300". Nous obtenions des extraits abondants, brunâtres, d'aspect caramélisé : ainsi le poids d'extrait sec désionisé d'une urine renfermant 63 g pour 1000 de glucose s'élevait

à 5,95 g pour 1000 et la solution prête pour le dc microbiologique présentait un pouvoir réducteur correspondant à 4 g pour 1000 de glucose. Une urine renfermant 59,2 g pour 1000 de glucose donnait un extrait désionisé de 1,20 g pour 1000 et la solution prête pour le test au Neurospora réduisait légèrement la liqueur de Fehling. Deux autres extraits urinaires de diabétiques renfermaient également des substances réductrices. Nous avons donc vérifié que les solutions de ces extraits ne modifiaient pas les résultats du dosage microbiologique par leur apport en glucose dans un milieu de culture renfermant déjà 15 g pour 1000 de glucose.

Vérification du test au Neurospora en présence de solutions d'extraits urinaires réducteurs.

Nous avons pratiqué un dosage d'inositol sur un extrait urinaire sans glucose et le même dosage sur cet extrait en utilisant les mêmes volumes de prises d'essai pour le test au Neurospora, mais en ajoutant 3 mg de glucose par 0,1 ml de solution d'inositol urinaire à doser.

Nous avons obtenu les résultats suivants : (tableau 8)

Tableau 8

DOSAGE DU MESO-INOSITOL PAR LE TEST AU NEUROSPORA DANS UN EXTRAIT URINAIRE SANS GLUCOSE ET DANS LE MEME EXTRAIT SURCHARGE EN GLUCOSE

	Prise d'essai	Poids de thalle obtenu en mg	Inositol trouvé en mg pour 1000
Solution d'inositol urinaire	1 ml	1,5	5,5
	2 ml	12	6
Solution d'inositol urinaire surchargée en glucose	1 ml	1,5	5,5
	2 ml (1er essai)	11	5,5
	2 ml (2e essai)	12	6

La surcharge en glucose opérée artificiellement au cours de l'expérience ci-dessus dépasse de beaucoup les quantités contenues dans les solutions d'extraits urinaires réducteurs, dont la plus forte concentration en glucose a été trouvée égale à 4 g pour 1000. Les 25 ml de milieu de culture liquide de Neurospora crassa utilisés pour les essais d'inositol renferment 375 mg de glucose. Les 60 mg de glucose, que nous avons apportés au milieu avec les 2 ml de la solution d'inositol urinaire surchargée en glucose, n'ont pas déterminé un accroissement du développement du thalle. Il n'y a donc pas lieu de modifier la technique du Neurospora pour nos expériences sur les urines de diabétiques.

Nous avons indiqué dans la première partie l'ordre que nous avons suivi, étant donné la richesse en inositol des urines de diabétiques, afin d'apprécier par chromatographie la dilution de l'extrait désionisé nécessaire à l'exécution correcte du test au Neurospora crassa.

Au cours de nos premiers essais effectués sur des urines de diabétiques, les ensemencements opérés avec 0,5, 1 et 2 ml de la dilution au 1/100e de la seconde fraction de l'extrait urinaire (dilution correspondant au volume urinaire primitif) selon la technique habituelle, nous ont donné des poids de thalle indiquant une croissance maximum de Neurospora crassa qui n'est plus guère influencée par les doses supra-optimales de 30 à 100 μ g de méso-inositol. Ces poids de thalle élevés, par exemple 30,5 ; 35,5 ; 37,5 ; 45 ; 47 mg dépassent les poids de thalle obtenus avec la gamme-témoin de 5 à 30 μ g d'inositol. Il nous a donc paru indispensable d'effectuer au préalable une évaluation approximative de l'inositol par chromatographie sur papier. Avec une micropipette, on dépose, sur le même chromatogramme 1, 3 et 6 gouttes de la solution de l'extrait urinaire dans 1 ml d'eau distillée. Après révélation en utilisant la réaction de Scherer-Gallois, on obtient le plus souvent, pour une seule goutte d'extrait un spot d'une belle coloration rouge orangé

intense, plus ou moins étendu, que l'on compare avec les spots de la gamme-témoin.

Exemple : le spot obtenu à partir d'une goutte de la solution d'extrait urinaire est comparable par son étendue et son intensité de coloration avec le spot correspondant à une quantité de l'ordre de 35 μ g de méso-inositol, Sachant que l'extrait urinaire est obtenu à partir de 100 ml d'urine et si l'on compte 650 taches de diamètre déterminé, par ml de solution aqueuse, la concentration en inositol par litre d'urine est de :

$$35 \mu\text{g} \times 650 \times 10 = 227.500 \mu\text{g} = 227 \text{ mg}$$

Il ne s'agit là, bien entendu, que d'une évaluation approximative, mais elle permet de prévoir qu'il faudra réaliser une dilution au 1/10^e de l'urine, c'est-à-dire une dilution au 1/1000^e de la seconde fraction de l'extrait désionisé, dilution dont la concentration en inositol sera voisine de 20 μ g par ml pour le dosage ultérieur au Neurospora.

Dans quelques cas, nous avons observé une traînée à partir du point de départ, ce retard dans la migration étant dû à une trop forte concentration en inositol, dépassant 40 μ g par goutte. Il ne faut pas confondre avec le scyllitol qui donne un spot sur la ligne de départ, bien distinct de celui qui correspond au méso-inositol. Au lieu d'utiliser la première fraction de 0,5 ml de l'extrait correspondant à 100 ml d'urine repris par 1 ml d'eau distillée, nous l'avons évaporée à sec et remise en solution dans 5 ml d'eau distillée. Nous avons alors obtenu par chromatographie des spots de faible intensité de coloration, ayant migré à quelques cm de la ligne de départ. Après dilution, nous n'avons pu mettre en évidence le scyllitol que dans deux urines de diabétiques.

Notons que plusieurs urines de diabétiques authentiques, mais en phase de rémission de la glycosurie, fournissaient des spots entrant dans la gamme des urines normales.

Afin de pouvoir doser dans les prises d'essais de 0,5, 1

et 2 ml de la solution urinaire la quantité optimum d'inositol de l'ordre de 10 μ g, nous avons dû opérer le plus souvent une dilution aqueuse au 1/1000 et, dans de rares cas, au 1/2000 de la seconde fraction de l'extrait désionisé. La pratique du test au Neurospora crassa a été décrite dans la première partie.

Chapitre 2

DETERMINATION DE L'INOSURIE DANS LE DIABETE SUCRE INTERPRETATION DES RESULTATS.

-:-

Nous avons examiné 28 cas de diabète pancréatique, 2 cas de diabète rénal, 1 cas de diabète hypophysaire avec acromégalie. Pour chaque sujet, nous avons effectué la mesure de la diurèse et déterminé, par litre et par 24 heures, la glycosurie, le poids d'extrait sec urinaire désionisé, l'inosurie par évaluation chromatographique et dosage au Neurospora. Enfin, nous avons, chaque fois que cela a été possible, déterminé le taux de la glycémie.

Nous avons observé chez les sujets diabétiques :

1°) des taux d'extrait sec urinaire désionisé variant de 120 mg à 5,95 g par litre (moyenne : 756 mg par litre), les taux les plus élevés appartenant à des urines riches en glucose ;

2°) des taux d'inosurie (mesurés par le Neurospora) variant de 6 à 340 mg par litre (moyenne : 107 mg par litre) ;

L'évaluation approximative de l'inosurie par chromatographie a fourni, pour ces mêmes urines, des chiffres variant entre 8 et 325 mg par litre (moyenne : 106 mg par litre).

La glycosurie a été déterminée par réduction de la liqueur de Fehling (modification Causse et Bonnans) et la glycémie par la méthode de Baudoin-Lewin.

Les résultats figurent dans le tableau 9. Les malades sont classés par ordre de glycosuries croissantes (*).

(*) Nous remercions Madame PIETTE, M. Ph. LAUDAT et Melle LAUDAT, Chefs de laboratoire des Hôpitaux de Paris, grâce à qui nous avons pu obtenir les échantillons analysés ainsi que les renseignements cliniques utiles à cette étude.

Tableau 9
INOSURIE DES SUJETS DIABETIQUES

A/ Diabètes pancréatiques

Réf- rence	Glycémie en g/l.	Diurèse en litres par 24 h.	Extrait sec urinaire désionisé	Glycosurie	Méso-Inositol	
					Neurospora	Chromatogra- phie
B 1	1,21	1.500	140 mg/l 210 mg/24 h	0	6 mg/l 9 mg/24 h	8 mg/l. 12 mg/24 h
B 2	1,30	1.625	200 mg/l 325 mg/24 h	0	6 mg/l 10 mg/24 h	8 mg/l
B 3	1,32	2.000	640 mg/l 1280 mg/24 h	0	14 mg/l 28 mg/24 h	19 mg/l 38 mg/24 h
H 4	1,50	1.000	120 mg/l 120 mg/24 h	0	20 mg/l 20 mg/24 h	18 mg/l 18 mg/24 h
L 5	2,08	1.200	380 mg/l 456 mg/24 h	0	28 mg/l 33 mg/24 h	21 mg/l 24 mg/24 h
P 6	0,65		482 mg/l	0	29 mg/l	18 mg/l
H 7	1,40	1.000	405 mg/l 405 mg/24 h	0	55 mg/l 55 mg/24 h	68 mg/l 68 mg/24 h
S 8		1.000	500 mg/l 500 mg/24 h	2,50 g/l 2,50 g/24h	140 mg/l 140 mg/24 h	165mg/l 165 mg/24 h
D 9	2,98	0.400	480 mg/l 192 mg/24 h	3,1 g/l 1,2 g/24h	72 mg/l 29 mg/24 h	65 mg/l 26 mg/24 h
S 10	1,40	1.250	725 mg/l 906 mg/24 h	3,5 g/l 4,3 g/24h	150 mg/l 187 mg/24 h	139 mg/l 174 mg/24 h
K 11	1,89	0.500	776 mg/l 388 mg/24 h	3,6 g/l 1,8 g/24 h	150 mg/l 75 mg/24 h	197 mg/l 98 mg/24 h
P 12	2,08	1.450	565 mg/l 819 mg/24 h	4,6 g/l 6,6 g/24 h	130 mg/l 188 mg/24 h	86 mg/l 124 mg/24 h
S 13		1.000	640 mg/l 640 mg/24 h	4,8 g/l 4,8 g/24 h	150 mg/l 150 mg/24 h	110 mg/l 110 mg/24 h
P 14	1,35	1.400	680 mg/l 952 mg/24 h	6 g/l 8,4 g/24 h	85 mg/l 119 mg/24 h	72 mg/l 100 mg/24 h
M 15	1,56		550 mg/l	6,2 g/l	160 mg/l	180 mg/l
D 16		0.800	150 mg/l 120 mg/24 h	8,2 g/l 6,5 g/24 h	15 mg/l 12 mg/24 h	11 mg/l 9 mg/24 h

Diabètes pancréatiques (suite)

Réf- erence	Glycémie en g/l	Diurèse en litres par 24 h.	Extrait sec urinaire désionisé	Glycosurie	Méso-Inositol	
					Neurospora	Chromatogra- phie
E 17	2,90	0.750	290 mg/l 217 mg/24 h	9 g/l 6,7 g/24h	30 mg/l 23 mg/24 h	32 mg/l 24 mg/24 h
X 18		1.000	681 mg/l 681 mg/24 h	10 g/l 10/24 h	340 mg/l 340 mg/24 h	325 mg/l 325 mg/24 h
M 19	2,66	1.500	420 mg/l 630 mg/24 h	10,4 g/l 15,6 g/24h	80 mg/l 120 mg/24 h	110 mg/l 165 mg/24 h
O 20	1,24	1.200	580 mg/l 696 mg/24 h	13,6 g/l 16,3 g/24h	82 mg/l 98 mg/24 h	71 mg/l 85 mg/24 h
C 21	2,32	1.100	360 mg/l 396 mg/24 h	13,7 g/l 15,1 g/24 h	38 mg/l 42 mg/24 h	32 mg/l 35 mg/24 h
P 22	1,80		790 mg/l	25 g/l	130 mg/l	120 mg/l
R 23	2,63	0.800	700 mg/l 560 mg/24 h	31,9 g/l 25,5 g/24h	130 mg/l 104 mg/24 h	110 mg/l 88 mg/24 h
F 24		1.500	940 mg/l 1410 mg/24 h	34,6 g/l 51,9 g/24h	130 mg/l 195 mg/24 h	110 mg/l 165 mg/24 h
S 25	3,72	1.500	2018 mg/l 3020 mg/24 h	36,9 g/l 55,3 g/24h	140 mg/l 210 mg/24 h	110 mg/l 165 mg/24 h
R 26	3,15	0,670	580 mg/l 388 mg/24 h	46 g/l 31 g/24 h	235 mg/l 151 mg/24 h	260 mg/l 174 mg/24 h
R 27	1,74	1.000	1200 mg/l 1200 mg/24 h	59,2 g/l 59,2 g/24h	210 mg/l 210 mg/24 h	162 mg/l 162 mg/24 h
R 28	3,20	0.645	5950 mg/l 3830 mg/24 h	62 g/l 40 g/24h	160 mg/l 103 mg/24 h	198 mg/l 127 mg/24 h

B/ Diabète hypophysaire

B 29	3,10	2.200	123 mg/l 2719 mg/24 h	34,8 g/l 76,5 g/24h	170 mg/l 374 mg/24 h	149 mg/l 327 mg/24 h
------	------	-------	--------------------------	------------------------	-------------------------	-------------------------

C/ Diabètes rénaux

L 30	0,82	1.500	290 mg/l 435 mg/24 h	9,4 g/l 14,1 g/24h	100 mg/l 150 mg/24 h	149 mg/l 223 mg/24 h
X 31	0,65		770 mg/l	44,6 g/l	150 mg/l	180 mg/l

INTERPRETATION DES RESULTATS :

Dans 28 cas de diabète pancréatique, nous avons pu mettre en évidence une élimination urinaire accrue de méso-inositol. Les taux rencontrés dans l'urine normale sont habituellement compris entre 12 et 56 mg par litre (HELLEU (37)) . Le même auteur a montré que les variations physiologiques de l'inosurie n'étaient pas en rapport étroit avec les variations de régime alimentaire susceptibles de modifier la dose d'inositol ingéré. C'est pourquoi nous n'avons pas mentionné le régime des sujets examinés au cours de ce travail. Nous avons nous-même déterminé l'inosémie et l'inosurie dans des états de dénutrition marquée. Les résultats figurent dans le tableau 10.

Tableau 10

RESULTATS DE L'INOSEMIE ET DE L'INOSURIE

AU COURS DE DENUTRITION MARQUEE

Cas observé	Référence	Inosémie en mg/l	Inosurie en mg/l
Anorexie mentale	B 32	6	5
Anorexie	A 33	10	6
Cachexie	P 34	9	8
Cachexie	B 35	7	56

L'examen de ce tableau montre que, malgré un apport alimentaire très faible, l'inosémie est normale, l'inosurie parfois abaissée. Pour un régime de 2500 calories, l'apport en inositol provenant principalement des végétaux, est d'environ 1 g par jour.

Un régime alimentaire pour diabétiques renferme entre 300 et 900 mg d'inositol par jour (20). Bien que cet apport quotidien soit légèrement inférieur à celui d'un régime normal, l'élimination urinaire de l'inositol est généralement accrue chez les diabétiques, comme le montre l'examen du tableau 9.

Presque tous les sujets de nos expériences, qui présentaient une glycosurie marquée, excrétaient des taux élevés de méso-inositol, dépassant facilement 100 mg par litre. Le chiffre le plus élevé rencontré dans nos essais est de 340 mg par litre, correspondant d'ailleurs à une glycosurie modérée de 10 g par litre. Trois malades, dont la glycosurie était moyenne (8,2 ; 9 et 13 g par litre) accusaient une inosurie respectivement égale à 15, 30 et 38 mg par litre, valeurs qui se classent dans les taux normaux et que nous considérons comme assez exceptionnelles chez les diabétiques.

Il est facile de constater, par l'examen du tableau 9, que les diabétiques traités à l'insuline et qui, de ce fait, ne présentent plus de glycosurie, mais simplement une glycémie supérieure à la valeur normale fournissent des urines dont la teneur en méso-inositol se range dans les valeurs trouvées chez les sujets normaux.

Le taux de la glycémie n'offre donc pas de relation quantitative avec celui de l'inosurie. Cette remarque trouve d'ailleurs sa confirmation si l'on se reporte aux résultats trouvés chez les malades atteints de diabète rénal. Ces sujets, dont la glycémie est normale, présentent une glycosurie plus ou moins importante et nous avons pu mettre en évidence dans leurs urines des quantités importantes de méso-inositol (100 et 150 mg par litre).

Il ne semble pas exister de proportionnalité entre les taux de glucose et de méso-inositol urinaires ; il suffit pour s'en rendre compte de comparer les concentrations urinaires en méso-inositol de quatre sujets éliminant sensiblement la même quantité de glucose par litre d'urine. Il s'agit des malades E 17, X 18, M 19, L 30.

Il est aisé de voir que le malade E 17, malgré une glycosurie marquée, n'excrète que 30 mg de méso-inositol, concentration que l'on peut considérer comme normale. Par contre, le malade X 18 élimine environ 10 fois plus de méso-inositol qu'un

sujet normal.

Notons ici que le scyllitol, caractérisé dans les urines d'adultes normaux selon une proportion de 60 à 70 pour cent (J. MONTREUIL (48)) et de 67 pour cent (P. MALANGEAU (43)) n'est apparu par chromatographie que chez deux sujets diabétiques X 18 et P 22.

Dans l'ensemble, nos résultats rejoignent ceux de DAUGHADAY, LARNER et HOUGHTON (20). Ces auteurs ont été conduits à admettre que le glucose augmente la clearance de l'inositol, dont la valeur a été trouvée égale à 0,9 et 1,5 ml par minute chez deux sujets normaux, tandis que, chez les diabétiques, sans surcharge en inositol, elle atteignait 117 ml par minute. Le glucose entrave la réabsorption tubulaire de l'inositol, comme le montrait le fait que les taux d'inositol plasmatique ont été trouvés du même ordre de grandeur chez les sujets normaux et diabétiques (variant de 3 à 12 mg par litre de sérum). Nous avons nous-même dosé l'inositol plasmatique chez un diabétique suivant la technique indiquée dans la première partie et l'avons trouvé égal à 6,5 mg par litre. Après perfusion intraveineuse de 70 ml d'une solution d'inositol à 10 p. cent, suivie de l'injection d'une solution isotonique à 1 p. 100 d'inositol à un rythme de 4 ml par minute, l'inositol sanguin s'élevait à des taux compris entre 51 et 75 mg pour 100 ml ; la capacité de réabsorption tubulaire était dépassée et la clearance de l'inositol, aux hautes teneurs plasmatiques, était égale à celle de la créatinine chez les sujets normaux et diabétiques. Enfin la surcharge en glucose par perfusion veineuse chez des sujets normaux déterminait une hyperglycémie et une glycosurie, qui augmentaient de 30 fois environ la clearance de l'inositol (20). L'accroissement de l'inosurie chez les diabétiques ne semble donc pas avoir une cause métabolique par élévation de la concentration sanguine, mais rénale, en raison de la saturation du pouvoir de réabsorption des tubules par le glucose. Il est possible que l'on assiste, dans les tubules proximaux, à un

phénomène de compétition dans la réabsorption du glucose et de l'inositol qui ont le même poids moléculaire, de même qu'il existe un mécanisme commun pour la réabsorption de certains groupes d'acides aminés (acides aminés à fonctions basiques : arginine, histidine, lysine ; acides mono-aminés, mono-carboxyliques : leucine et isoleucine) la compétition s'exerçant aussi entre des substances très différentes : chlorure de sodium et vitamine C, phosphates et glucose. Peut-être certains mécanismes de groupage de transfert appartiendraient-ils même à la physiopathologie. Dès l'apparition de la glycosurie qui traduit un dépassement du "seuil" du glucose dont la valeur est de 180 mg par 100 ml de plasma, l'inositol contenu dans le filtrat glomérulaire subit un trouble de la réabsorption : chez un sujet pré-diabétique, nous avons observé une inosurie normale puis, quelques jours plus tard, chez le même sujet, une inosurie accrue accompagnant une glycosurie importante. Inversement, lorsque le glucose disparaît de l'urine, nous avons constaté que la réabsorption de l'inositol redevient normale. Cependant, dans certains cas, malgré l'existence d'une glycosurie, l'inositol est réabsorbé normalement. Cela dépend peut-être des facultés glycorécupératrices des différents néphrons dont la vitesse de saturation peut varier.

De même que G. MEILLERE et P. FLEURY avaient pu vérifier l'existence de l'inosurie dans le diabète phloridzosique, DAUGHADAY, LARNER et HOUGHTON (21) ont pu constater chez le rat soumis à des injections de phloridzocide que la glycosurie consécutive à l'administration de cette substance s'accompagnait d'une excrétion accrue de méso-inositol. Or il est connu que le phloridzocide est un inhibiteur des réactions de phosphorylation. De ce fait, il n'est pas illogique de supposer qu'après filtration glomérulaire le méso-inositol comme le glucose devrait subir une phosphorylation préalable à sa réabsorption tubulaire. Ceci rejoint notre observation relative aux deux cas de diabète rénal où nous avons pu mettre en évidence une excrétion élevée,

de méso-inositol (100 et 150 mg) accompagnant une glycosurie notable (9,4 et 44,6 g par litre). Or il est établi aujourd'hui que la glycosurie du diabète rénal est due à un défaut de réabsorption tubulaire, peut-être conséquence d'un trouble de la phosphorylation rénale par inhibition de l'hexokinase qui favorise la phosphorylation (abaisssement de la "tubular maximal capacity of réabsorption for glucose", donnée physiologique établie par SMITH (62)).

Il est cependant nécessaire d'insister sur le fait qu'il n'est pas possible, à l'heure actuelle, de considérer la phosphorylation comme un stade préliminaire indispensable à la résorption des oses, tant au niveau de l'intestin qu'à celui des tubules. En effet, malgré les expériences séduisantes de VERZAR, on connaît des oses qui sont facilement résorbés sans phosphorylation notable, tandis que d'autres aisément phosphorylables ne sont que très médiocrement résorbés par la muqueuse intestinale en particulier (SOLS (64)).

Le phloridzozide inhiberait dans les tissus rénaux l'oxydation phosphorylante qui apporte l'énergie nécessaire au processus actif qu'est la réabsorption tubulaire. Aucun fait expérimental n'est connu en faveur de la phosphorylation de l'inositol. On sait seulement, comme nous l'avons déjà signalé dans les généralités, que le monophosphate d'inositol est plus rapidement absorbé que l'inositol libre au niveau de la muqueuse intestinale (69).

Néanmoins, quel qu'en soit le mécanisme intime, le passage de l'inositol dans l'urine semble bien, comme dans le cas du glucose, être étroitement lié à une entrave aux processus de réabsorption tubulaire.

Chapitre 3

DETERMINATION DE L'INOSURIE DANS DEUX CAS DE DIABETE INSIPIDE

-:-

Dans le cadre de nos recherches sur l'inosurie dans le diabète sucré, nous avons envisagé le cas de deux malades atteints de diabète insipide. Les travaux des différents auteurs au sujet de l'inosurie dans le diabète insipide ont donné lieu à des résultats très contradictoires. En 1858, VOHL isole de 18 à 20 g d'inositol par jour de l'urine d'un patient atteint de diabète insipide. En 1864, GALLOIS réussit à faire cristalliser l'inositol de l'urine de quatre sujets atteints de diabète insipide. En 1874, KULZ montre la présence d'inosurie dans deux cas de diabète insipide et en 1908, STARKENSTEIN prétend que l'inosurie n'est pas en relation avec la glycosurie, mais avec l'augmentation de la diurèse. Il interprète l'inosurie, après piqûre du plancher du quatrième ventricule, comme résultant de la polyurie et non de la glycosurie. En 1954, les auteurs américains déjà cités (21) n'observent pas d'accroissement de l'inosurie en provoquant une diurèse osmotique par le chlorure de sodium chez le Rat. Ils constatent par ailleurs que les diabétiques éliminent beaucoup plus d'inositol que les sujets normaux à valeurs de diurèse égales, après restriction ou ingestion massive d'eau. Le tableau 11 résume les résultats que nous avons obtenus chez les deux sujets atteints de diabète insipide.

Tableau 11

INOSURIE CHEZ DEUX SUJETS ATTEINTS DE DIABETE INSIPIDE

Référence	Diurèse en litres par 24 h	Extrait sec urinaire désionisé	Méso - Inositol	
			Neurospora	Chromatogra- phie
B 36	2.800	70 mg/l 196 mg/24 h	5 mg/l 14 mg/24 h	5 mg/l 14 mg/24 h
L 37	5.500	88 mg/l 484 mg/24 h	3 mg/l 16,5 mg/24h	5 mg/l 27 mg/24 h

L'examen de ce tableau montre que, si l'on peut noter une diminution de l'inosurie par litre en raison de l'augmentation de la diurèse, en revanche l'inosurie par 24 heures est normale. On ne saurait donc établir de relation entre la polyurie et l'accroissement de l'inosurie. La polyurie du diabète insipide est due à un trouble de la réabsorption de l'eau. Elle traduit l'inhibition dans l'anse de Henlé et le tube distal de la "réabsorption aqueuse facultative" étudiée par H.W. SMITH (62) et que tient sous sa dépendance l'hormone diencéphalo-posthypophysaire, par opposition à la réabsorption de l'eau dans le tube proximal qui est "obligatoire", obéissant à des lois physiques. Dans le diabète insipide, la clearance du diodrast aux basses concentrations plasmatiques a été le plus souvent trouvée normale, ce qui montre l'intégrité histologique des tubules. La réabsorption tubulaire du méso-inositol est donc normale dans cette affection.

TROISIEME PARTIE

Chapitre 1

VARIATIONS DE L'INOSURIE PENDANT L'ELIMINATION RENALE DE SUBSTANCES APPARENTÉES AU GLUCOSE

-:-

Sachant que le passage du glucose dans l'urine s'accompagne d'un accroissement de l'inosurie, nous avons déterminé l'inosurie au cours de l'élimination rénale de substances apparentées au glucose : galactose, lactose, arabinose, xylose, acide ascorbique, sorbitol, mannitol. Notre but était de rechercher si, en présence de substances apparentées au glucose comme en présence de glucose dans le filtrat glomérulaire, un phénomène de compétition tubulaire n'entraînait pas un passage de l'inositol dans l'urine. Nous avons donc déterminé l'inosurie avant et après ingestion de chacune de ces substances. Nous avons utilisé le test au "Neurospora crassa", la technique chromatographique ne permettant pas une précision suffisante pour apprécier des différences d'inosurie souvent légères. Avant de déterminer l'inosurie, nous avons décelé par chromatographie sur papier la présence des différents glucides et hexitols dans les urines au cours des épreuves de surcharge per os.

La technique utilisée consiste en une solubilisation des glucides dans le méthanol absolu bouillant, après concentration de l'urine sous vide à 40° C. L'urine (20 ml) est additionnée de 10 fois son volume d'éthanol à 95°, puis filtrée après 5

minutes de contact. Le filtrat est concentré sous vide à 40° à sec. Le résidu est repris par 15 ml de méthanol absolu bouillant. On centrifuge. Le surnageant est distillé sous vide. Le résidu est repris par 5 ml d'eau distillée. La solution obtenue renferme encore des sels qui donnent des traînées après chromatographie sur papier. Cette solution est alors passée, goutte à goutte, successivement sur deux microcolonnes renfermant respectivement environ 5 g de Permutite "50" et de Déacidite "200". Chaque colonne est lavée avec 100 ml d'eau distillée. Les éluats sont concentrés à sec sous vide. Le résidu est repris par 2 à 3 ml d'eau distillée. Cette solution est utilisée pour la chromatographie sur papier Whatman n° 4 avec les mélanges solvants suivants (composition exprimée en volumes : V/v)

Solvant n° 1 : n Butanol	10
Pyridine	3
Eau	3

Durée de développement : 24 h. Température de la cuve # 22°

Solvant n° 2 : Isopropanol	7
N Butanol	1
Eau	2

Durée de développement : 48 à 72 h

Température de la cuve # 22°

Solvant n° 3 : n Butanol	4
Ethanol	4
Eau	2

Durée de développement: 48 h

Température de la cuve # 22°

Pour révéler les chromatogrammes, nous avons utilisé la naphtylamine, l'urée chlorhydrique et la di-méthyl-aniline (5).

Nous avons ainsi caractérisé le glucose et le galactose au cours de l'épreuve n° III de galactosurie provoquée, l'arabinose, le xylose, le lactose après ingestion de ces oses et, dans de rares cas, le saccharose, le fructose, présents à l'état de traces

dans les urines. Nous avons en outre caractérisé le glucose chez les diabétiques. Certains spots n'ont pu être identifiés.

Nous avons, par ailleurs, caractérisé le sorbitol et le mannitol dans la solution d'extrait urinaire désionisé utilisée pour la chromatographie des inositols. Nous avons employé comme solvants chromatographiques :

1) Acétate d'éthyle	3	
n Butanol	4	en vol.
Acide acétique	2,5	
Eau	4	

Durée de développement : 22 h - Température de la cuve $\neq$ 22°

2) n Butanol	9	
Pyridine	5	en vol.
Eau	4	

Durée de développement : 18 h - Température de la cuve $\neq$ 22°

Le papier utilisé est le Whatman n° 1.

Nous avons révélé nos chromatogrammes à l'aide d'un réactif au tétracétate de Plomb en solution éthanolique (5). Ce réactif donne, après chauffage à 105° pendant 3 minutes, des taches claires sur fond brun. Nous avons ainsi, sur le même chromatogramme, mis en évidence le méso-inositol et le sorbitol qui ont des Rf bien distincts. Nous avons également caractérisé le mannitol dans l'extrait urinaire désionisé, abondant, d'aspect cristallin, obtenu après ingestion de cet hexitol.

Les taches correspondant au sorbitol sont beaucoup plus étendues pour les échantillons recueillis 4 heures après ingestion de cet hexitol que pour ceux recueillis au bout de 24 heures, ces derniers ayant été pris comme "témoins" de l'élimination urinaire normale du méso-inositol.

Nous allons maintenant exposer les résultats de l'inosurie au cours des différentes épreuves.

I.- INOSURIE AU COURS DE L'EXCRETION DE GALACTOSE :

Nous avons déterminé l'inosurie au cours d'épreuves de galactosurie provoquée en recueillant les échantillons les plus riches en galactose, c'est-à-dire généralement les urines émises deux heures après ingestion de 40 g de galactose. Dans tous les cas, nous avons effectué le même examen sur l'urine "témoin" recueillie avant l'épreuve. La recherche du pouvoir réducteur urinaire et la chromatographie sur papier ont décelé la présence de glucose dans l'urine-témoin de l'épreuve n° III. Nous avons déterminé les taux de galactose urinaire par réduction de la liqueur de Fehling. Les résultats concernant huit cas de galactosurie sont consignés dans le tableau n° 12.

Tableau 12
INOSURIE AU COURS D'ÉPREUVES DE GALACTOSURIE PROVOQUÉE

Numéro de l'épreuve	Extrait sec désigné en mg/litre	Galactosurie en g/litre	Inéso-inositol en mg/litre (test au <u>Neuro- spora crassa</u>)
I			
avant l'épreuve	490	0	4
pendant l'épreuve	850	26,5	20
II			
avant l'épreuve	600	0	8
pendant l'épreuve	720	3,8	10
III			
avant l'épreuve	420	0	100
pendant l'épreuve	870	9,50	200
		Présence de Galactose + Glucose	
IV			
avant l'épreuve	770	0	20
pendant l'épreuve	1170	23	24
V			
avant l'épreuve	260	0	6
pendant l'épreuve	320	3,2	38
VI			
avant l'épreuve	220	0	4,5
pendant l'épreuve	460	3,3	17
VII			
avant l'épreuve	150	0	5
pendant l'épreuve	190	2	11
VIII			
avant l'épreuve	190	0	7
pendant l'épreuve	440	8,1	8

II.- INOSURIE AU COURS DE L'EXCRETION DE LACTOSE :

Nous avons dosé l'inositol dans l'urine d'un nourrisson de cinq mois contenant 3,9 g pour 1000 de lactose et dans l'urine d'un sujet sain avant et deux heures après absorption de 40 g de lactose. Chez le nourrisson, nous avons trouvé un taux d'inosurie à la limite supérieure de la normale (55 mg par litre). HELLEU (37) cite en effet le cas d'un nourrisson de quatre mois dont l'inosurie était de 19 mg par litre. Nous avons nous-même trouvé une inosurie égale à 4 mg par litre chez un nourrisson de cinq mois venant de présenter une galactosémie, mais dont les urines ne renfermaient plus de galactose. Les résultats concernant les deux cas de lactosurie sont consignés dans le tableau 13.

Tableau 13

INOSURIE AU COURS DE L'EXCRETION DE LACTOSE

Cas observé	Extrait sec désionisé en mg/litre	Lactosurie en g/litre	Méso-inositol en mg/litre (<u>Neurospora</u>)
I Nourrisson	2060	3,9	55
II Adulte avant ingestion de lactose	220	0	10
pendant l'épreu- ve	880	2,5	29

III.- INOSURIE AU COURS DE L'EXCRETION DE L-ARABINOSE :

Avant l'ingestion de 2 g de L-arabinose et trois heures après, nous avons recueilli les urines d'un sujet sain et dosé l'inositol dans ces deux échantillons (Tableau 14) :

Tableau 14

INOSURIE AVANT ET APRES INGESTION DE 2 g D'ARABINOSE

	Extrait sec désionisé en mg/litre	Arabinosurie en g/litre	Inositol en mg/litre (<u>Neurospora</u>)
avant l'épreuve	600	0	7
pendant l'épreuve	660	2,5	10

Dans une seconde expérience, chez un sujet ayant absorbé à jeun 5 g de L-arabinose, nous avons recueilli au bout de 3 heures 150 ml d'urine renfermant 2,1 g d'arabinose par litre, soit 0,31 g dans l'échantillon ; au bout de 6 heures, nous avons recueilli 225 ml d'urines renfermant 3 g par litre d'arabinose, soit 0,67 g dans l'échantillon. Nous avons dosé l'inositol dans 100 ml de ce dernier échantillon (Tableau 15) :

Tableau 15

INOSURIE AVANT ET APRES INGESTION DE 5 g D'ARABINOSE

	Extrait sec désionisé en mg/litre	Arabinosurie en g/litre	Inositol en mg/litre (<u>Neurospora</u>)
avant l'épreuve	1650	0	16
pendant l'épreuve	400	2.5	9

IV.- INOSURIE AU COURS DE L'EXCRETION DE D XYLOSE :

Chez un sujet ayant absorbé 5 g de D xylose, le volume d'urines recueillies au bout de 3 heures était de 350 ml renfermant 1,33 g de xylose. Les résultats de l'inosurie figurent dans le Tableau 16.

Tableau 16

INOSURIE AVANT ET APRES INGESTION DE XYLOSE

	Extrait sec désionisé en mg/litre	Xylosurie en g/litre	Inositol en mg/litre (<u>Neurospora</u>)
avant l'épreuve	1260	0	11
pendant l'épreuve	760	3,8	5

V.- INOSURIE AU COURS DE L'EXCRETION D'ACIDE L-ASCORBIQUE :

On dose l'inositol dans l'urine recueillie douze heures après absorption de 7 g d'acide ascorbique chez un sujet sain. L'expérience est renouvelée au bout de quelques jours (Tableau 17)

Tableau 17

INOSURIE AVANT ET APRES INGESTION D'ACIDE ASCORBIQUE

	Extrait sec désionisé en mg/litre	Méso-Inositol en mg/litre (<u>Neurospora</u>)
avant l'épreuve	820	12,5
pendant l'épreuve (1)	780	10
(2)	930	10

VI.- INOSURIE AU COURS DE L'EXCRETION DE D-MANNITOL :

L'urine est recueillie 2 heures après absorption de 15 g de mannitol à jeun (Tableau 18)

Tableau 18

INOSURIE AVANT ET APRES INGESTION DE MANNITOL

	Extrait sec désionisé en mg/litre	Méso-Inositol en mg/litre
avant l'épreuve	1170	15
pendant l'épreuve	14030	6

On observe, après ingestion de mannitol, un extrait urinaire désionisé abondant, d'aspect cristallin, renfermant du mannitol.

VII.- INOSURIE AU COURS DE L'EXCRETION DE D SORBITOL :

Après absorption de 25 g de sorbitol le matin à 7 heures, on recueille les urines à 11 heures, puis le lendemain à 7 heures. On dose l'inositol dans ces 2 échantillons. L'expérience a été pratiquée chez 3 sujets sains (Tableau 19)

Tableau 19

INOSURIE AU COURS DE L'EXCRETION DE SORBITOL

Numéro de l'épreuve	Heure du prélèvement	Volume de l'échantillon en ml	Extrait sec désionisé en mg/litre	Méso-Inositol en mg/litre
I	4 h après ingestion de sorbitol	300	1460	3
	24 h après ingestion de sorbitol	550	950	8
II	4 h après ingestion de sorbitol	400	920	2
	24 h après ingestion	550	380	7,5
III	4 h après ingestion de sorbitol	300	1180	15,5
	24 h après ingestion	500	490	31

Chapitre 2

DISCUSSION GENERALE DES RESULTATS

-:-

Il faut tout d'abord remarquer dans l'ensemble des valeurs basses d'inosurie, surtout durant les épreuves. Ceci peut être dû à une élévation de la diurèse, les substances peu ou non réabsorbées par les tubes agissant en diurétiques "osmotiques" par opposition de leur pression osmotique à la réabsorption hydrique.

Au cours des épreuves de galactosurie provoquée n° I, III, V, VI, VII, soit dans cinq cas sur huit, on observe un accroissement assez net de l'inosurie, bien que les chiffres obtenus demeurent compris dans la zone physiologique. Au cours de l'épreuve n° V, le taux d'inositol de l'urine renfermant du galactose est égal à six fois le taux de l'urine "témoin" ; au cours de l'épreuve n° I, on rencontre cinq fois plus d'inositol dans l'urine renfermant du galactose, environ trois fois plus au cours de l'épreuve n° VI, le double au cours de l'épreuve n° VII où les taux d'inosurie sont faibles, le double également au cours de l'épreuve n° III effectuée chez un sujet diabétique à inosurie déjà élevée avant l'ingestion de galactose. Dans les trois autres cas, les taux d'inosurie avant et pendant l'épreuve restent identiques.

En 1943, deux auteurs scandinaves, GAMMELTOFT et KJERULF-JENSEN (34) arrivent à conclure que le galactose comme le glucose est activement réabsorbé par les tubules. Il existerait

pour chaque hexose des systèmes enzymatiques phosphorylants et déphosphorylants, le phloridzozide bloquant la réabsorption des trois hexoses : glucose, fructose, galactose. Un phénomène de compétition naîtrait du fait qu'ils agissent tous les trois comme accepteurs de phosphate vis-à-vis d'un donneur commun : l'ATP. D'autres auteurs ont indiqué une réabsorption du galactose égale à 40 p. cent chez le chien, sans rapport avec la concentration plasmatique. Il n'y aurait pas de taux maximum de réabsorption. KRANE et CRANE (41) ont étudié récemment in vitro la réabsorption du galactose à l'aide de coupes de cortex rénal de lapin placées dans un milieu contenant du D-galactose 1 C^{14} . En présence d'oxygène, la quantité de galactose fixée par les cellules rénales est fonction de la concentration du milieu en cet hexose. Elle diminue en présence de glucose et cet abaissement dépend des concentrations des deux sucres. Le phloridzozide inhibe l'accumulation du galactose dans les cellules. Pour nos expériences, la compétition tubulaire entre l'inositol et le galactose semble moins marquée qu'entre l'inositol et le glucose. Au cours de glycosuries, nous avons constaté des taux d'inositol dépassant largement les limites normales (100, 200, voire 300 mg/litre). Il est vrai que le galactose est transformé en glucose dans le foie chez les sujets normaux, et, dans la plupart de nos épreuves, la galactosurie était peu importante.

Après ingestion de lactose, nous avons noté un léger accroissement de l'inosurie dont le taux demeure compris dans la zone physiologique.

Quant aux pentoses (xylose, arabinose), M. RANGIER, P.M. de TRAVERSE, Melle M. BONVALLET (55) concluent que ces corps ne possèdent pas de seuil d'élimination et ne sont pas réabsorbés par les tubules. Selon H.W. SMITH (62), la réabsorption tubulaire du xylose emprunte le même processus que celle du glucose, mais la vitesse de réaction est bien moins grande,

de sorte que le rapport des clearances $\frac{\text{xylose}}{\text{inuline}}$ est de 0,78 chez l'Homme et il n'y a pas de taux maximum de réabsorption. Le glucose et le phloridzose bloquent la réabsorption du xylose. Dans les urines de sujets présentant une pentosurie congénitale par défaut de métabolisme des pentoses, on a décelé récemment des quantités de L arabitol égales à plusieurs centaines de mg par jour (TOUSTER et HARWELL (65)). Au cours de l'élimination urinaire d'arabinose, dans un cas sur deux, nous avons trouvé un taux d'inosurie légèrement abaissé par rapport à celui de l'urine "témoin", probablement par augmentation de la diurèse. Dans l'autre cas, les taux avant et après ingestion étaient très voisins. Au cours de l'élimination urinaire du xylose, l'inosurie était abaissée. Peut-être y a-t-il compétition dans la réabsorption du glucose, de l'inositol et du xylose : le glucose et l'inositol étant d'abord activement réabsorbés, il s'ensuivrait la diffusion dans l'urine du xylose.

L'acide ascorbique est activement réabsorbé par les tubules dans la portion proximale du néphron, mais aux fortes concentrations plasmatiques, sa clearance tend vers la valeur de la filtration glomérulaire, par suite de la saturation de la fonction de réabsorption (RALLI, FRIEDMAN et RUBIN (54)). Les mêmes auteurs ont montré que, lors d'une surcharge en glucose, la réabsorption de l'acide ascorbique demeure inchangée. C'est peut-être la raison pour laquelle nous n'avons constaté aucune modification de l'inosurie au cours d'épreuves de surcharge per os en acide L-ascorbique, ce dernier n'empruntant pas le mécanisme de réabsorption tubulaire du glucose, mécanisme qui semble commun avec l'inositol.

Quant aux hexitols acycliques (mannitol, sorbitol), W.W. SMITH, N. FINKELSTEIN et H.W. SMITH (63) ont montré qu'ils sont éliminés dans l'urine par simple filtration glomérulaire, leurs clearances étant très proches de celle de l'inuline. Cependant, en ce qui concerne le sorbitol, son métabolisme est

très actif. Récemment, ADCOCK et GRAY (1) ont observé que l'homme excrète seulement dans l'urine 3 pour cent d'une dose de 35 g de sorbitol ingéré, 75 pour cent étant métabolisés en donnant finalement du gaz carbonique. Une autre partie serait convertie en fructose et glucose dans le foie. Le mannitol, lui, est très légèrement métabolisé. En raison de l'absence de toute fixation protéinique, le mannitol plasmatique est totalement ultrafiltrable et sa clearance, utilisée pour mesurer la filtration glomérulaire, est indépendante de la concentration plasmatique. Nous n'avons pas observé d'accroissement de l'inosurie allant de pair avec l'élimination du sorbitol et du mannitol. Il ne peut exister de phénomène de compétition tubulaire. En revanche, on peut noter dans les échantillons recueillis 4 heures après l'ingestion de sorbitol des chiffres bas d'inositol par rapport à ceux trouvés dans les échantillons recueillis au bout de 24 heures, ceci étant dû probablement à une augmentation de la diurèse. De même le taux d'inositol de l'échantillon renfermant du mannitol est abaissé par rapport à celui de l'urine "témoin".

Ces faits semblent donc venir étayer l'hypothèse selon laquelle le passage dans l'urine du méso-inositol est lié à un défaut de réabsorption tubulaire, l'élimination rénale des substances partiellement ou non résorbables ne modifiant pas de façon sensible le taux de l'inosurie, tandis que celle des corps activement réabsorbés (en particulier le glucose, moins sensiblement le galactose) provoque une diffusion de l'inositol dans l'urine. Ces observations plaident encore en faveur d'un mécanisme très voisin de réabsorption tubulaire pour l'inositol et le glucose. De fait, comme nous le montrons dans la sixième partie de ce travail, les modalités de l'élimination rénale du méso-inositol et du glucose présentent des points communs.

QUATRIEME PARTIE

Chapitre 1

DETERMINATION DE L'INOSURIE ET DE L'INOSEMIE AU COURS D'AFFECTIONS MUSCULAIRES ET NEUROMUSCULAIRES

--

Comme nous l'avons déjà signalé, le méso-inositol fut isolé pour la première fois du muscle de boeuf par SCHERER en 1856. La dénomination myoinositol très utilisée par les auteurs anglo-saxons peut être considérée comme constituant un plénnasme, les deux racines grecques du mot signifiant "muscle". Le méso-inositol étant un constituant normal du muscle (représentant 0,01 g pour cent du muscle du squelette et 0,10 à 0,37 g pour cent du muscle du coeur), nous avons étudié l'élimination rénale de ce cyclitol au cours d'atteintes musculaires : dix-huit cas de myopathies, trois cas de poliomyélites récentes, un cas de maladie de Guillain et Barré^(*).

I.- MYOPATHIES :

La myopathie est une affection de caractère héréditaire , dont le principal signe biologique est l'augmentation du

(*) Nous remercions M. le Professeur Agrégé G. SCHAPIRA qui nous a permis de nous procurer les échantillons d'urines de myopathes dans son service de l'Hôpital des Enfants-Malades et M. J.J. POCIDALO, Chef de laboratoire à la Faculté de Médecine (Hôpital Claude Bernard) grâce à qui nous avons pu obtenir les urines de poliomyélitiques.

rapport $\frac{\text{créatine}}{\text{créatinine}}$, ce rapport étant supérieur à 1 chez l'enfant jusqu'à deux ans pour diminuer progressivement et devenir inférieur à 0,1 chez l'adulte. L'hypercréatinurie et l'hypocréatininurie témoignent de l'atteinte musculaire qui entraîne une diminution de la transformation de la créatine en phosphagène et en créatinine dans le muscle. On observe également une hyperaldolasémie d'autant plus importante que le sujet est plus jeune, mais qui régresse à mesure que la maladie progresse. Ce symptôme peut faire défaut chez la femme. Il manque dans les autres affections musculaires : poliomyélites anciennes, myotonies, myatonies, polyradiculonévrites. La diminution du glycogène et de la phosphocréatine dans le muscle myopathe est encore discutée.

Selon une hypothèse récente, l'anoxie provenant d'un ralentissement de la vitesse circulatoire serait le primum movens de la myopathie caractérisée par un muscle faible, en règle atrophique, parfois pseudohypertrophique, sans qu'il y ait d'atteinte nerveuse. Nous avons dosé l'inositol dans 14 échantillons d'urines de myopathes recueillies le matin à la consultation : onze enfants de 4 à 15 ans et trois adultes. Nous avons pu également déterminer l'inosurie par 24 heures chez quatre sujets : trois enfants de 6, 8 et 15 ans et un adulte.

En raison de la pauvreté en inositol de certains échantillons, nous avons dû, pour obtenir des taches visibles sur le chromatogramme, superposer 6 et 9 gouttes de la première fraction de 0,5 ml de la solution d'extrait désionisé dans 1 ml d'eau distillée et utiliser la dilution à 1/50^e de la deuxième fraction de l'extrait pour obtenir avec les prises d'essai de 0,5 , 1 et 2 ml une croissance suffisante de Neurospora crassa.

Nous avons noté l'âge et le sexe de chaque sujet afin d'observer d'éventuelles variations de l'inosurie.

Les taux d'inosurie chez 11 enfants myopathes (mesurés

par le "Neurospora") varient de 2,5 à 14 mg par litre) pour les urines recueillies le matin. Par chromatographie, les chiffres sont du même ordre de grandeur : compris entre 4 et 16 mg (moyenne : 10 mg par litre).

Chez 3 adultes myopathes, les taux d'inositol des urines du matin varient de 4 à 48 mg par litre.

Enfin, les taux observés dans les urines de 24 heures varient de 6 à 100 mg par litre pour les quatre cas analysés. Les résultats sont rassemblés dans le Tableau 20.

Tableau 20
INOSURIE CHEZ LES MYOPATHES

I Urines du matin

Enfants

Sexe	Référence	Age	Extrait sec urinaire désionisé en mg/litre	Méso-Inositol en mg/litre	
				Neurospora	Chromatogra- phie
M	M 38	10 a	120	2,5	
F	E 39	12	240	3	4
M	D 40	4	346	6	
M	L 41	7	472	7	8
M	L 42	8	267	7	9
F	R 43	9	258	7	13
M	L 44	8	2756	9	8
M	T 45	7½	300	10	8
M	S 46	15	700	13	
M	P 47	11	338	14	13
M	L 48	10	240	14	16

Adultes

M	B 49		240	4	4
F	D 50	35	460	26	42
M	S 51		920	48	

II Urines de 24 heures						
Enfants						
Sexe	Réf- erence	Age	Diurèse en l/24h	Extrait sec urinaire désionisé	Méso-Inositol	
					Neurospora	Chromatogra- phie
F	L 52	6 a	0,450	540 mg/l 243 mg/24 h	6 mg/l 3 mg/24 h	
M	C 53	15	1,000	270 mg/l 270 mg/24 h	13 mg/l 13 mg/24 h	12 mg/l 12 mg/24 h
M	S 54	8	0,750	360 mg/l 270 mg/24 h	100 mg/l 75 mg/24 h	71 mg/l 53 mg/24 h
Adulte						
M	D 55	21	1.000	1340 mg/l 1340 mg/24 h	160 mg/l 160 mg/24 h	110 mg/l 110 mg/24 h

Nous avons pu déterminer parallèlement l'inosémie et l'inosurie chez 3 sujets myopathes. Les résultats figurent dans le tableau 21.

Tableau 21

TAUX D'INOSEMIE ET D'INOSURIE CHEZ TROIS SUJETS MYOPATHES

Sexe	Référence	Age	Inosémie en mg/litre	Inosurie en mg/litre
F	M 56	24 ans	8,5	19
F	V 57	12 ans	6	10
M	D 58	5 ans	2,5	2

II.- POLIOMYELITES RECENTES ET SYNDROME DE GUILLAIN ET BARRE:

Chez 3 poliomyélitiques et un sujet présentant le syndrome de Guillain et Barré, nous avons obtenu les taux d'inosurie suivants (Tableau 22) :

Tableau 22

INOSURIE CHEZ LES POLIOMYELITIQUES

Sexe	Référence	Extrait désionisé en mg/litre	Iso-inositol en mg/l	
			Neurospora	Chromatogra- phie
M	B 59	350	6	12
F	P 60	930	9	16
F	V 61	500	10	12
INOSURIE AU COURS D'UNE POLYRADICULONEVRITE				
F	T 62	2050	11	16

N.B. : Une controverse s'est engagée entre divers auteurs (ORR (50) et MATTHEWS (46)) relativement à l'existence d'une ribosurie au cours de diverses affections neuromusculaires. Nous n'avons pas pu, par chromatographie sur papier selon la technique décrite dans la troisième partie de ce travail, mettre en évidence le ribose dans les urines de poliomyélitiques et des myopathes dont nous avons déterminé l'inosurie.

Chapitre 2

INTERPRETATION DES RESULTATS

-:-

Afin de pouvoir nous reporter à des résultats trouvés chez des sujets normaux, nous avons dosé l'inosurie chez des enfants d'âges compris entre 2 ans $\frac{1}{2}$ et 10 ans, car les informations manquaient à ce sujet. Les résultats sont rassemblés dans le tableau 23.

Tableau 23
INOSURIE D'INFANTS NORMAUX

Sexe	Réf- erence	Age	Extrait sec urinaire désionisé en mg/litre	Méso-Inositol en mg/l	
				Neurospora	Chromatographie
M	A 63	8 ans	680	8	12
M	M 64	2 $\frac{1}{2}$	300	9	12
F	L 65	6 ans	490	10	12
F	P 66	7 ans	1340	16	12
M	P 67	6 ans	410	29	32
F	L 68	10 ans	640	30	25

Si l'on compare la moyenne de l'inosurie chez les enfants myopathes (8 mg par litre) et chez les enfants normaux (17 mg par litre), on constate pour la première catégorie un léger abaissement de l'inosurie, peut-être imputable au fait que les échantillons examinés ne représentent qu'une faible portion des urines de 24 heures, les urines du matin paraissant moins riches en inositol.

En ce qui concerne les quelques urines de 24 heures d'enfants myopathes que nous avons pu nous procurer, l'inosurie est accrue (100 mg par litre) chez le seul sujet S 54. L'examen d'un nouvel échantillon d'urine ne présentant ni glucose, ni protéines, a permis de constater que l'inosurie s'élevait encore à 75 mg par litre.

Les taux d'inosurie trouvés chez les adultes myopathes sont comparables à ceux rencontrés chez les adultes normaux (26 mg par litre en moyenne). Seul le sujet D 55 présente une inosurie accrue (160 mg par litre). Le taux était identique au bout de quelques mois et l'urine avait un léger pouvoir réducteur.

L'inosémie, que nous avons pu déterminer chez 3 sujets seulement, a été trouvée normale chez 2 d'entre eux, le troisième taux étant abaissé (2 mg par litre chez l'enfant D 58).

Dans 3 cas de poliomyélites récentes et un cas de maladie de Guillain et Barré, les taux d'inosurie sont voisins de 10 mg par litre.

Dans nos conditions opératoires, nous avons décelé la présence de scyllitolurie chez les myopathes D 40 et D 50 et chez l'enfant normal L 68.

En définitive, mis à part 2 cas isolés au cours de nos examens, il semble que les maladies musculaires, malgré une créatinurie accrue, doivent s'accompagner d'une inosurie sensiblement normale quoique parfois abaissée.

CINQUIEME PARTIE

ETUDE DE L'INOSURIE ET DE L'INOSEMIE AU COURS DES NEPHROPATHIES

Chapitre 1

DETERMINATION DE L'INOSURIE DANS LES NEPHROPATHIES CHRONIQUES

-:-

L'étude de l'inosurie au cours de maladies rénales a été abordée par les mêmes auteurs qui s'intéressèrent au problème de l'inosurie dans le diabète sucré. CLOETTA, le premier, en 1856, rencontra l'inositol dans l'urine d'un brigitique. Les recherches de NEWKOMM lui permirent de retrouver l'inositol dans les urines de trois sujets albuminuriques. GALLOIS, sur 25 observations d'urines albumineuses, obtint un résultat positif pour deux seulement et l'un des deux sujets avait été soigné l'année précédente pour diabète. GEORGES constata de façon irrégulière la présence d'inositol dans les cas d'albuminurie. Enfin, RECOULES (56), après examen de 10 urines albumineuses, observa que l'inosurie était fréquemment augmentée et assez rarement diminuée.

TECHNIQUE ET RESULTATS

Nous avons dosé systématiquement le méso-inositol urinaire de façon spécifique dans les affections rénales. Nous avons utilisé les mêmes techniques analytiques que celles qui

ont été signalées dans le cas des urines de malades diabétiques, avec la seule variante que nous décrivons ci-dessous.

Afin d'éliminer les protéines urinaires susceptibles de perturber ultérieurement le dosage du méso-inositol par un apport éventuel d'acides aminés facteurs de croissance complémentaires de "Neurospora crassa", nous avons opéré sur 100 ml d'urine une thermocoagulation au pH optimum compris entre 4,5 et 5 en milieu salin convenable. Après filtration, nous avons effectué la désionisation de l'urine déprotéinisée, suivant le procédé habituel. La résine anionique Déacidite "300" fixe les ions CH_3COO^- introduits dans l'urine pour acidification à pH convenable. La suite des opérations est exactement identique à celles déjà décrites.

L'évaluation approximative de l'inositol par chromatographie sur papier permet de prévoir la dilution de l'extrait urinaire à utiliser pour le test au Neurospora crassa. Après reprise de l'extrait sec par 1 ml d'eau distillée et division de cette solution en deux fractions égales de 0,5 ml, les spots d'inositol obtenus à partir d'une seule microgoutte de la première fraction sont le plus souvent d'une coloration très intense. Après évaporation à sec au bain-marie, il a fallu reprendre cette fraction de l'extrait par 5 ml d'eau distillée pour obtenir des spots comparables à ceux fournis par la gamme-témoin. Comme pour les urines de diabétiques, nous avons utilisé le plus souvent les dilutions au 1/1000 et, dans de rares cas, au 1/2000 de la seconde fraction de l'extrait urinaire (la dilution au 1/100 étant suffisante pour les urines normales) avec des prises d'essai de 0,5, 1 et 2 ml pour permettre une croissance de Neurospora crassa compatible avec le dosage.

Il est évident que l'on peut réduire le volume d'urine utilisé pour le dosage de l'inositol dans des urines aussi riches en inositol que celles des sujets diabétiques et néphritiques. On pourrait utiliser 10 ml d'urines que l'on

ferait passer sur des colonnes renfermant 20 g de résines et réduire dans les mêmes proportions les quantités d'eaux de lavages et de liqueurs régénératives des résines. L'extrait urinaire obtenu à partir de 10 ml d'urine serait alors traité de la même façon que l'extrait obtenu à partir de 100 ml d'urines. Il serait repris par 1 ml d'eau distillée. La première fraction de 0,5 ml servirait à la chromatographie sur papier. La seconde fraction diluée au 1/100 serait utilisée pour le test au Neurospora.

RÉSULTATS DE L'INOSURIE DANS LES NEPHROPATHIES :

L'examen a porté sur 17 urines de sujets atteints de néphropathies chroniques avec rétention uréique et 3 échantillons différents d'urines du même sujet en voie de guérison d'une néphrite aiguë anurique post abortum. Nous avons, par ailleurs, analysé 7 urines de sujets néphrotiques (4 enfants et 3 adultes). Nous avons noté quelques observations prises dans le service du Professeur DEROT à l'Hôtel-Dieu, à la date où nous avons recueilli les urines (*).

F 35 : Homme de 31 ans

Protéinurie au long cours avec obésité progressive et hypertension artérielle. Fatigabilité . Dyspnée, Céphalées. Notable hépatomégalie.

C 36 : Femme de 60 ans

Néphroangiosclérose avec urémie passant de 1,90 g à 3 g, puis régressant avec le régime Borsi sans chlorure de sodium à 1,25 g. Dyspnées permanentes dues à une insuffisance ventriculaire gauche.

V 37 : Femme de 44 ans entrée dans le service pour hyperten-

(*) Nous remercions M.P. PIGNARD, Pharmacien des Hôpitaux et Melle M.T. MISSON, grâce à qui nous avons pu obtenir les échantillons analysés ainsi que les renseignements cliniques utiles à cette étude.

sion artérielle. Poussée azotémique . Urée sanguine = 2,20 g par litre.

M 40 : Jeune homme de 15 ans. Néphrite chronique consécutive à une glomérulonéphrite aiguë avec syndrome infectieux.

Bilan rénal très perturbé.

D 41 : Jeune homme de 24 ans ayant présenté à 20 ans une glomérulonéphrite aiguë.

Protéinurie élevée.

Urée sanguine élevée.

G 44 : Homme de 30 ans.

Néphrite chronique chez un sujet ayant présenté des parasitoses ; amibiase, paludisme, filariose.

Le culot urinaire renferme hématies et cylindres

Débit minute : 33.000 hématies minute. 9240 leucocytes.

Malgré l'exsanguino-transfusion et le rein artificiel, l'urée sanguine atteint encore 2,80 g par litre.

C 46 : Homme de 30 ans.

Protéinurie au long cours avec oedèmes malgré le régime Reins polykystiques probables.

L'urée sanguine s'élève à 4 g par litre.

Anémie sérieuse.

G 51 : Néphropathie chronique.

C 56 : Jeune homme de 20 ans.

Amylose rénale avec oedèmes.

L'urée sanguine oscille entre 0,65 et 0,80 par litre

Résultats de l'électrophorèse du sérum sanguin.

Protéines totales : 100 g par litre

Albumines = 31,5 p. 100

α_1 globulines = 6,5 "

α_2 " = 24 "

β " = 14 "

γ " = 24 "

Rapport $\frac{S}{G}$ = 0,45

Nous avons, pour chaque échantillon d'urine, dosé l'albumine par néphélémétrie selon la technique de MESTREZAT et, aussi souvent qu'il a été possible de le faire, déterminé le taux de chlorures par la méthode de Charpentier-Volhard. En raison du régime déchloruré auquel sont soumis ces malades, nous avons toujours obtenu des taux très faibles de chlorures. La recherche du pouvoir réducteur urinaire vis-à-vis de réactif cupro-alcalin est demeurée négative dans tous les cas.

Mise à part la tubulo-néphrite aiguë, nous avons observé dans les cas de néphrites chroniques :

1°) des taux de extrait sec désionisé variant de 365 à 3540 mg par litre (moyenne : 1080 mg par litre). Les taux les plus élevés appartiennent aux urines les plus riches en protéines.

2°) des taux de méso-inositol (mesurés par le test au Neurospora crassa) variant de 26 à 560 mg par litre d'urine (moyenne : 221 mg par litre).

Les taux d'inositol urinaire (suivant l'évaluation approximative par chromatographie) sont compris entre 36 et 520 mg par litre (moyenne : 219 mg par litre).

Les résultats ont été rassemblés dans le tableau 24, où les échantillons analysés sont classés par ordre de protéinuries croissantes.

Tableau 24
INOSURIE DE SUJETS NEPHRITIQUES
A/ Néphrites chroniques

éfé- rence	Diurèse	Extrait sec urinaire désionisé	Chlorures urinaires en ClNa	Protéines urinaires	Méso-Inositol	
					Neurospora	Chromatogra- phie
G 69	1.450	400 mg/l 580 mg/24 h	0,6 g/l 0,9 g/24 h	0,4 g/l 0,60g/24 h	85 mg/l 123 mg/24 h	71 mg/l 102 mg/24 h
F 70	0.750	380 mg/l 285 mg/24 h	0,7 g/l 0,5 g/24 h	1 g /l 0,75g/24 h	55 mg/l 41 mg/24 h	71 mg/l 63 mg/24 h
C 71	1.150	570 mg/l 655 mg/24 h	1 g /l 1,1 g/24 h	1,2 g/l 1,4 g/24 h	160 mg/l 184 mg/24 h	110 mg/l 126 mg/24 h
V 72	0.750	1160 mg/l 870 mg/24 h	0,9 g/l 0,7 g/24 h	1,5 g/l 1,1 g/24 h	420 mg/l 315 mg/24 h	520 mg/l 390 mg/24 h
G. 73	1.600	880 mg/l 1408 mg/24 h		1,5 g/l 2,4 g/24 h	460 mg/l 736 mg/24 h	360 mg/l 570 mg/24 h
F 74	0.950	460 mg/l 437 mg/24 h	1,9 g/l 1,8 g/24 h	2 g/l 1,9 g/24 h	26 mg/l 25 mg/24 h	36 mg/l 34 mg/24 h
H 75	1.500	690 mg/l 1035 mg/24 h		4 g /l 6 g /24 h	200 mg/l 300 mg/24 h	149 mg/l 223 mg/24 h
D 76	1.250	500 mg/l 625 mg/24 h	3 g /l 3,7 g/24 h	5,5 g/l 4,7 g/24 h	175 mg/l 218 mg/24 h	149 mg/l 187 mg/24 h
G 77	0.850	1600 mg/l 1360 mg/24 h	1 g /l 0,8 g/24 h	5,5 g/l 4,7 g/24 h	500 mg/l 425 mg/24 h	520 mg/l 442 mg/24 h
D 78	1.300	510 mg/l 663 mg/24 h		6 g /l 7,8 g/24 h	200 mg/l 264 mg/24 h	266 mg/l 345 mg/24 h
G 79	0.750	591 mg/l 443 mg/24 h		7 g /l 5,2 g/24 h	185 mg/l 139 mg/24 h	130 mg/l 97 mg/24 h
J 80	0.750	1940 mg/l 1455 mg/24 h	2 g /l 1,5 g/24 h	10 g /l 7,5 g/24 h	90 mg/l 67 mg/24 h	110 mg/l 82 mg/24 h
C 81	0.450	890 mg/l 450 mg/24 h	0,6 g/l 0,3 g/24 h	10 g /l 4,50g/24 h	190 mg/l 95 mg/24 h	227 mg/l 102 mg/24 h
D 82	2.200	365 mg/l 803 mg/24 h	0,7 g/l 1,5 g/24 h	10 g/l 22 g /24 h	250 mg/24 h 550 mg/24 h	266 mg/l 585 mg/24 h
V 83	0.500	3540 mg/l 1770 mg/24 h	1,5 g/l 0,7 g/24 h	12 g /l 6 g /24 h	130 mg/l 65 mg/24 h	110 mg/l 55 mg/24 h
C 84	0.400	1716 mg/l 686 mg/24 h	2,4 g/l 1 g /24 h	12 g /l 4,8 g/24 h	560 mg/l 224 mg/24 h	520 mg/l 208 mg/24 h
J 85	0.750	2200 mg/l 1650 mg/24 h		20 g/l 15 g/24 h	75 mg/l 56 mg/24 h	110 mg/l 82 mg/24 h

B/ Néphrite aiguë en voie de guérison

Réf- rence	Diurèse en l/24 h	Extrait sec urinaire désionisé	Chlorures urinaires en g/litre	Protéines urinaires en g/litre	Méso-Inositol	
					Neurospora	Chromato- graphie
P 86	1.125	220 mg/l 225 mg/24 h		0,25 g/l 0,3 g /24 h	30 mg/l 34 mg/24 h	32 mg/l 36 mg/24 h
P 86b (9 j. après)	2		3 g/l	0,20 g/l	80 mg/l 160 mg/24 h	
P 86t (7 j. après)	1.500	290 mg/l 435 mg/24 h		0,20 g/l 0,30 g/24 h	65 mg/l 97 mg/24 h	71 mg/l 106 mg/24 h

En ce qui concerne nos sept cas de néphroses, nous avons noté :

1°) des taux d'extrait sec désionisé variant entre 360 et 4.557 mg par litre (moyenne : 1504 mg par litre), les poids les plus élevés appartenant aux urines les plus riches en protéines.

2°) des taux d'inositol (mesurés par le test au Neurospora) variant entre 19 et 125 mg par litre (moyenne : 65 mg par litre).

Les taux d'inositol indiqués par chromatographie sur papier sont du même ordre de grandeur : 32 à 142 mg par litre (moyenne : 76 mg par litre).

Ces résultats figurent dans le tableau 25.

Tableau 25
INOSURIE DES NEPHROTIQUES

Réf- erence	Extrait sec urinaire désionisé en mg/litre	Protéines urinaires en g/litre	Méso-Inositol en mg/litre	
			Neurospora	Chromatogra- phie
I.- Enfants				
F 87	560	0,10	65	65
F 88	880	0,25	125	142
R 89	420	1,50	65	71
S 90	3100	9	50	65
N 91	4557	30	19	
II.- Adultes				
C 92	360	4	40	32
H 93	1020	10	75	88
H 94	1140	12	80	71

L'examen du tableau 24 montre que, dans le cas de néphrites chroniques, l'inosurie est le plus souvent accrue. Le chiffre le plus élevé est de 560 mg par litre, chez un sujet dont la diurèse est certes faible (400 ml par 24 heures), mais dont l'inosurie par 24 heures égale à 224 mg représente une valeur beaucoup plus élevée que celle observée chez les sujets normaux. Seuls les échantillons F 70 et F74 renferment des taux sensiblement normaux de méso-inositol : 55 et 26 mg par litre. Toutes les autres urines analysées renferment des quantités importantes de méso-inositol.

En comparant les taux de protéinurie et d'inosurie, on constate qu'il n'existe aucun parallélisme entre l'élimination urinaire des protéines et de l'inositol. Il est facile de s'en rendre compte si l'on examine les taux d'inositol trouvés pour des urines renfermant approximativement les mêmes quantités de protéines. Ainsi les échantillons d'urines J 80, C 81, D 82, J 83, C 84, H 93, H 94, dont les teneurs

en protéines sont comprises entre 10 et 12 g par litre, renferment des taux d'inositol compris entre 75 et 560 mg par litre, le taux le plus faible (H 93) appartenant à un malade atteint de néphrose.

Nous n'avons mis en évidence le scyllitol dans nos conditions opératoires que dans 2 échantillons (V 72 et C 81) sur 24 que nous avons examinés.

En raison de la rareté des urines dans les tubulo-néphrites aiguës, nous n'avons examiné qu'un seul cas d'anurie post abortum, après exsanguino-transfusion (Malade P 86). Les examens ont été faits en fin de traitement. Les résultats montrent que l'inosurie est assez proche des valeurs normales, mais il est important de remarquer que la diurèse était redevenue normale et la protéinurie minime.

Dans le cas des néphroses, il est aisé de voir en consultant le tableau 25 que l'élimination rénale d'inositol n'est en général pas beaucoup plus élevée que chez les sujets normaux, qu'il s'agisse d'adultes ou d'enfants atteints de néphrose lipoïdique. Seul le sujet F 88 présente une inosurie élevée (125 mg par litre).

Afin d'étudier l'élimination rénale du mésoinositol après ingestion de cette substance et par là-même l'activité de son métabolisme, nous avons opéré chez des sujets atteints de néphrites chroniques des surcharges per os en ce cyclitol.

Chapitre 2

EPREUVES DE SURCHARGE PER OS EN INOSITOL AU COURS DE NEPHROPATHIES CHRONIQUES

-:-

Nous avons dosé l'inositol dans les urines de 24 heures précédant et suivant l'absorption le matin à jeun de 3 g d'inositol chez les sujets dont les diagnostics suivent: (x)

C 95 : Reins polykystiques avec insuffisance rénale.

Urémie : 1,10 g par litre.

B 97 : Néphropathie albuminurique et hyperazotémique chez un sujet présentant une anomalie congénitale probable de l'appareil urinaire excréteur.

D 98 : Néphrite azotémique hypertensive.

Urémie : 0,95 g par litre.

H 99 : Néphropathie albuminurique et oedémateuse.

C 100: Grande décalcification. Amylose rénale.

Urémie : 1,90 g par litre

La recherche du pouvoir réducteur urinaire vis-à-vis de la liqueur de Fehling est légèrement positive pour le malade C 100. La chromatographie sur papier des extraits urinaires désionisés nous a indiqué des concentrations en inositol déjà supérieures à la normale avant l'ingestion, mais encore

(x) Nous remercions M. le Professeur J. HAMBURGER, M. MASSON et Mme SACHS, chefs de laboratoire du service du Professeur J. HAMBURGER à l'Hôpital Necker, grâce à qui nous avons pu nous procurer ces divers échantillons d'urines.

plus élevées après l'ingestion d'inositol. La trop grande approximation par chromatographie après dilution des extraits ne permet pas de retenir les valeurs obtenues. Pour le test au Neurospora crassa, nous avons utilisé les dilutions au 1/2000e de la seconde fraction de l'extrait urinaire désionisé aux doses de 0,5 , 1 et 2 ml.

Les résultats figurent dans le tableau 26 .

Tableau 26

INOSURIE DANS LES NEPHRITES CHRONIQUES
24 HEURES AVANT ET APRES INGESTION DE 3 g D'INOSITOL

Réf- rence	Avant l'épreuve			Après l'épreuve		
	Diurèse en l/24 h.	Protéinurie en g/24 h.	Inosurie en mg/24 h.	Diurèse en l/24 h	Protéinu- rie en g/24 h.	Inosurie en mg/24 h
C 95	1,450	1,4	456	1,500	1,5	840
G 96	1,200	2,4	528	1,600	2,4	736
B 97	1,180	3,5	224	1,100	2,2	440
D 98	1,200	4,8	456	1,200	8,4	720
H 99	0,480	9,6	172	0,400	8	200
C 100	0,950	11,4	190	0,900	18	324
Moyenne			338			543

Afin de comparer ces résultats à ce qui se passe chez les sujets normaux, nous avons administré 3 g de mésoinositol par voie buccale chez 5 sujets apparemment sains. En plus de l'inosurie dans les 24 heures précédant et suivant l'ingestion, nous avons pu déterminer chez trois de nos sujets l'inosémie la veille de l'épreuve et deux heures après l'ingestion. Les résultats analytiques figurent dans le tableau suivant (tableau 27).

Tableau 27
INOSURIE ET INOSEMIE CHEZ LES SUJETS NORMAUX
AVANT ET APRES INGESTION DE 3 g D'INOSITOL.

Réf- erence	Avant l'épreuve			Après l'épreuve		
	Diurèse en l/24h	Inosémie en mg/l	Inosurie en mg/24h	Diurèse en l/24h	Inosémie en mg/l	Inosurie en mg/24h
F 101	1,950	8,5	8	2,150	16	32
C 102	1,650	7,5	26	1,100	16	33
G 103	2,320	8	97	2,475	10	173
P 104	1		6	1		12
C 105	0,810		11	1,160		28
Moyenne		8	30		14	56

DISCUSSION DES RESULTATS :

Chez les sujets normaux, dans les deux heures suivant l'ingestion de 3 g d'inositol, l'inosémie passe de 8 à 14 mg par litre en moyenne. Une partie de l'inositol ingéré peut être utilisée comme facteur de croissance vis-à-vis des bactéries intestinales : une partie de l'inositol serait ainsi soustraite à l'absorption au niveau de l'intestin. De plus l'inositol serait rapidement métabolisé en glucose et CO_2 . L'inosurie dans les 24 heures suivant l'ingestion, surpasse de 26 mg en moyenne le taux observé la veille de l'épreuve, ce qui est en faveur d'un métabolisme actif de l'inositol.

Chez les 6 sujets atteints de néphropathies chroniques, la comparaison des résultats obtenus avant et après ingestion de la même dose d'inositol (3 g) montre, dans les 24 heures suivant l'ingestion, une nette augmentation (moyenne : 205 mg) de l'inosurie dont le taux était déjà très élevé la veille de l'épreuve (moyenne : 338 mg/24 h). Au niveau des reins, la fonction de réabsorption tubulaire de l'inositol étant déjà débordée, la surcharge en inositol qui se présente aux glomérules serait éliminée dans l'urine après simple filtration. Notons qu'au cours de ces épreuves, nous n'avons pas décelé

de scyllitolémie, ni de scyllitolurie après ingestion d'inositol.

Pour expliquer l'accroissement de l'inosurie au cours des affections rénales, on ne peut invoquer un phénomène de compétition tubulaire entre le glucose et l'inositol. En effet, malgré l'altération de la fonction tubulaire dans les néphropathies chroniques, la glycosurie est rare au cours de ces affections. Nous n'avons pu mettre en évidence un pouvoir réducteur urinaire que chez le seul sujet C 60. Cette absence de glycosurie reste, de l'avis des physiopathologistes, un phénomène pour lequel aucune explication satisfaisante n'a pu jusqu'ici être retenue.

Le fait est donc assez troublant de constater une inosurie massive sans manifestation de glycosurie. La détermination de l'inositol sanguin au cours de néphrites aiguës et chroniques n'ayant donné lieu à aucun travail antérieur, nous avons cru bon de nous préoccuper de savoir si cette hyperinosurie était due à une diminution du coefficient de réabsorption tubulaire de l'inositol par un trouble exclusivement rénal ou à une élévation de l'inositol plasmatique qui se présente aux glomérules.

Chapitre 3

DETERMINATION DE L'INOSITOL PLASMATIQUE AU COURS DES NEPHRITES CHRONIQUES ET AIGUES. MESURES DE CLAIRANCE DE L'INOSITOL ENDOGENE

-:-

En utilisant la technique de dosage de l'inositol plasmatique exposée dans la première partie, nous avons eu la surprise d'observer que les prises d'essai de 0,5 , 1 et 2 ml des solutions d'extraits provenant de plasmas de sujets atteints de néphrites chroniques entraînaient une croissance abondante de "Neurospora crassa" , dont les poids de thalle dépassaient largement la gamme de 5 à 30 μ g de méso-inositol. Après dilution au 1/10^e de ces solutions d'inositol plasmatique, nous avons obtenu des poids de thalle compatibles avec le dosage microbiologique.

Nous avons pu déterminer parallèlement les inositols plasmatique et urinaire chez deux des sujets examinés : H 109 et G 115 : les taux d'inosurie observés étaient de 310 et 300 mg par litre.

Nous rassemblons dans le tableau 28 les résultats obtenus dans :

1°) dix cas de néphropathies chroniques, dont un cas de polykystose rénale avec insuffisance rénale et retentissement vasculaire (L 108) et un cas d'anurie consécutive à une lithiase rénale ayant été opérée (néphrectomie) par la suite (R 110). Les taux d'inosémie observés sont très divers, mais

tous dans le sens d'un accroissement notable, allant de 3 à 20 fois la valeur normale (taux compris entre 19 et 150 mg par litre ; moyenne : 85 mg par litre).

2°) Huit cas de néphrites aiguës, dont quatre cas d'anurie post abortum avec septicémie à perfringens (S₁₁₈, L₁₁₉, G₁₂₀, S₁₂₂) et un cas d'anurie totale après prostatectomie suivie d'hémorragie (C₁₁₇). Les taux observés sont sensiblement normaux pour les sujets C₁₁₇, L₁₁₉, G₁₂₀, S₁₂₂. La moyenne de l'inosémie est plus basse que dans les néphrites chroniques : 43 mg par litre. Le taux d'urémie est indépendant de la valeur de l'inosémie comme l'indique le tableau 28 où les sujets sont classés par ordre d'urémies croissantes.

Tableau 28
TAUX D'INOSITOL PLASMATIQUE,
AU COURS DE NEPHRITES CHRONIQUES ET AIGUES
(Test au Neurospora)

Référence	Inosémie en mg/l	Urémie en g/l
I. Néphrites chroniques		
G ₁₀₆	19	1,20
F ₁₀₇	60	1,25
L ₁₀₈	75	2,60
H ₁₀₉	150	3,15
R ₁₁₀	120	4
S ₁₁₁	32	4,20
L ₁₁₂	100	5,65
V ₁₁₃	85	
G ₁₁₄	90	
G ₁₁₅	120	

Tableau 28 (suite)

Référence	Inosémie en mg/l	Urémie en g/l
II. Néphrites aiguës		
G ₁₁₆	80	2,15
C ₁₁₇	10	2,25
S ₁₁₈	70	2,50
L ₁₁₉	10	2,60
G ₁₂₀	14	2,85
A ₁₂₁	100	3,45
S ₁₂₂	15	3,55
E ₁₂₃	44	

CONTROLE CHROMATOGRAPHIQUE :

Afin de vérifier que la croissance de Neurospora crassa est bien provoquée par le méso-inositol présent dans les solutions d'extraits plasmatiques provenant de malades néphritiques et non à certains facteurs susceptibles d'activer la croissance du micro-organisme (l'urée n'est pas un facteur de croissance), nous avons opéré la chromatographie sur papier de ces solutions suivant la technique utilisée pour les solutions d'extraits urinaires. Nous avons obtenu des réactions de SCHERER nettement positives avec des spots de coloration très intense.

Pour une de ces solutions (R₁₁₀), nous avons donné, par chromatographie, une appréciation de la teneur en inositol. Nous avons évaporé à sec dans une petite capsule de verre Pyrex 1 ml de la solution d'inositol plasmatique utilisée pour le test au Neurospora chez les sujets normaux. Nous avons repris le résidu par 0,1 ml d'eau distillée que l'on peut répartir en 65 gouttes environ de 8 mm de diamètre sur papier Arches 1030. Nous avons superposé 10 gouttes de cette solution sur le même point de la ligne de départ. Après développement et révélation, nous avons obtenu un spot compara-

ble à celui correspondant à 30 μg d'inositol dans la gamme témoin. La teneur en inositol du plasma R_{110} pouvait être évaluée à :

$$\frac{30 \mu\text{g} \times 65 \times 1000}{10} = 195 \text{ mg par litre}$$

Le test au Neurospora indiquait un taux de 120 mg par litre.

Nous n'avons pas mis en évidence le scyllitol dans les extraits plasmatiques renfermant du méso-inositol.

Détermination de la clearance de l'inositol endogène dans deux cas de néphrite chronique chez l'Homme:

La clearance ou coefficient d'épuration rénale exprime en ml par minute le volume virtuel de plasma que le rein est capable de débarrasser complètement en une minute du corps étudié.

Dans la formule générale de la clearance

$$C = \frac{UV}{P}$$

U = concentration urinaire en mg par ml.

V = débit urinaire en ml par minute.

P = concentration plasmatique en mg par ml.

Nous avons mesuré la clearance de l'inositol endogène (sans surcharge) dans les conditions suivantes : le sujet vide sa vessie à l'heure zéro. Au bout de quinze minutes, on prélève un échantillon de 12 ml de sang que l'on recueille sur héparine. Quinze minutes après, soit trente minutes après le début de l'épreuve, le sujet vide sa vessie à nouveau. On note le volume des urines émises pendant cette période de trente minutes. Le méso-inositol est dosé dans le plasma et dans l'urine.

Chez le premier sujet, dont la protéinurie était de 5 g par litre, nous avons obtenu les valeurs suivantes :

U = 0,23 mg/ml

V = 0,83 ml/mn

$$P = 0,108 \text{ mg/ml}$$

$$C = \frac{0,23 \times 0,83}{0,108} = 1,75 \text{ ml/mn}$$

Le débit étant inférieur à 1 ml/mn, ce qui introduit une cause d'erreur (l'abaissement des clearances aux flux urinaires inférieurs à 1 ml/mn est considéré comme un phénomène général), nous avons réalisé une autre épreuve en faisant boire au sujet 300 ml d'eau à l'heure zéro. Chez ce deuxième sujet, dont la protéinurie était de 0,40 g par litre et l'urémie de 1,65 g par litre, nous avons obtenu :

$$U = 0,175 \text{ mg/ml}$$

$$V = 4,16 \text{ ml/mn}$$

$$P = 0,120 \text{ mg/ml}$$

$$C = \frac{0,175 \times 4,16}{0,120} = 6,06 \text{ ml/mn}$$

Cette valeur est légèrement élevée par rapport au taux normal de la clearance de l'inositol qui est voisin de 1 ml/mn chez l'Homme. Il ne nous a malheureusement pas été possible de connaître le taux de la clearance du mannitol à la date de notre examen, mais on peut admettre que la filtration glomérulaire est abaissée.

CONCLUSION :

Au cours des néphropathies, il semble que ce soit un excès d'inositol plasmatique qui entraîne un accroissement de l'inosurie, par saturation des tubules rénaux. Il se produirait un phénomène comparable à celui de la glycosurie consécutive à un dépassement du seuil glycémique rénal, dans le diabète sucré pancréatique.

On peut émettre l'hypothèse qu'il existe pour le méso-inositol comme pour le glucose une capacité tubulaire maximale de réabsorption et un seuil plasmatique. L'épreuve de GOVAERTS consiste à élever brutalement et passagèrement la glycémie de façon à déborder la capacité de réabsorption du tubule et,

tandis que la glycémie tend à revenir à la normale par le jeu de la glycorégulation, à déterminer à intervalles réguliers le taux du glucose sanguin et la valeur du débit-minute de la glycosurie. Nous avons pu réaliser chez le chien l'expérience parallèle pour l'inositol afin d'observer si cette substance se comporte comme une substance à seuil. Cette étude fait l'objet de la sixième partie de ce travail.

Quoi qu'il en soit, la cause d'une sorte de "diabète à inositol" qui semble s'affirmer dans les néphropathies demeure obscure. Elle pourrait être recherchée dans un défaut du métabolisme de ce cyclitol, qui s'avère très actif au niveau du rein (CHARALAMPOUS (17) et AGRANOFF (2)).

SIXIEME PARTIE

MODALITES DE L'ELIMINATION RENALE
DU MESO-INOSITOL CHEZ LE CHIEN

-:-

Nous avons étudié chez le Chien les modalités de l'élimination rénale du méso-inositol pour les valeurs physiologiques et anormalement élevées de l'inosémie. Le taux du méso-inositol libre du plasma chez le Chien est d'environ 8 mg par litre, l'élimination urinaire s'élevant en moyenne à 16 mg par litre, taux comparables à ceux que nous avons pu déterminer chez l'Homme à l'état normal. Nous avons réalisé chez le Chien une épreuve d'hyperinosémie provoquée comparable à l'épreuve de GOVAERTS pour le glucose (35).

-:-

Chapitre 1

DESCRIPTION DE L'EPREUVE -RESULTATS

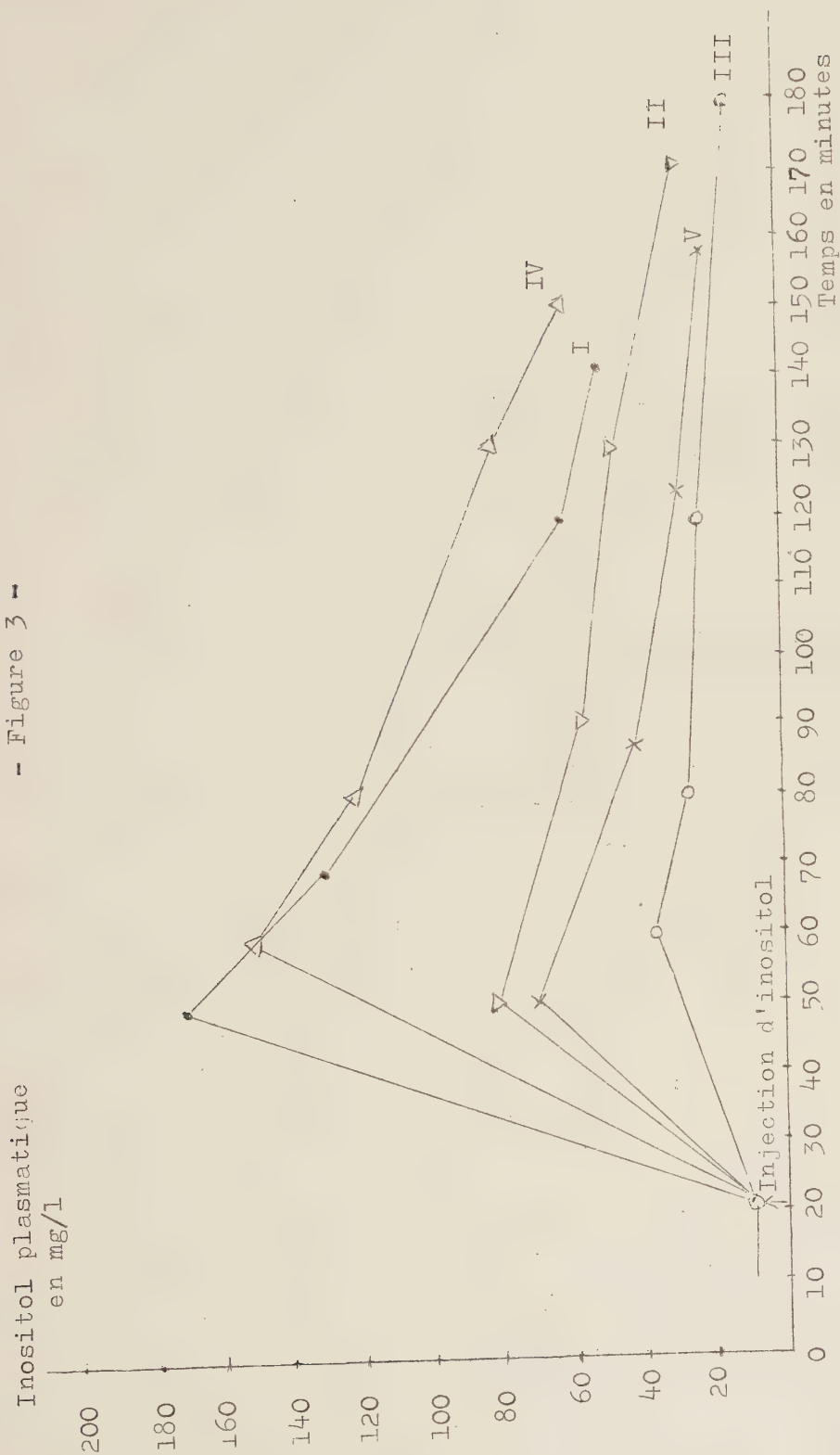
-:-

PRINCIPE :

Après avoir mesuré le taux de la clearance de l'inositol endogène pendant une période de 20 minutes, nous avons élevé brusquement le taux de l'inosémie par administration intra-veineuse d'inositol, de façon à déborder la capacité de réabsorption des tubules. Nous avons ensuite déterminé à intervalles réguliers la concentration plasmatique en inositol et la valeur du débit-minute de l'inosurie, jusqu'au retour aux chiffres donnés par la première clearance avant injection.

Nous avons ainsi mesuré les clearances de l'inositol pendant 4 périodes de 20 minutes, s'échelonnant durant 3 heures après l'injection. De façon à obtenir une gamme de concentrations plasmatiques en inositol variant de 8 à 150 mg par litre, nous avons administré au cours d'expériences successives sur 5 chiens de poids différents les doses de 2 ml , 0,7 ml et 0,5 ml/Kg d'une solution de méso-inositol à 5 p. cent, soit 100 mg/Kg (Chiens I et IV), 35 mg/Kg (Chiens II et V), et 25 mg/Kg (Chien III) de méso-inositol. L'inositol plasmatique s'accroît brusquement et revient à la normale au bout de 3 à 4 heures après l'injection (Figure 3)

- Figure 3 -



VARIATIONS DE L'INOSITOL PLASMATIQUE EN FONCTION DU TEMPS APRES
ADMINISTRATION INTRA VEINEUSE D'INOSITOL CHEZ LES CHIENS I, II, III, IV, V.

Le taux de la clearance de la créatinine exogène permet de connaître , pour chaque période de clearance, la valeur de la filtration glomérulaire désignée par C_F . En effet, la créatinine est partiellement excrétée par les tubules chez l'Homme, tandis que, chez le Chien, cette substance est éliminée dans l'urine sans réabsorption, ni excrétion tubulaires et sa clearance est indépendante de sa concentration plasmatique. La créatinine sanguine et urinaire a été dosée par la méthode de Folin modifiée. Pendant toutes les mesures de clearance, le flux urinaire s'est maintenu aux alentours de 7 ml/minute, grâce à une perfusion continue de créatinine-mannitol. Le mannitol agit comme diurétique osmotique et par inhibition de l'aldostérone au niveau surrénalien et de l'"anti-diuretic Hormon" ou A.D.H. au niveau hypophysaire.

PROTOCOLE OPERATOIRE-type de nos expériences chez le Chien :
25-10-58 :

Chienne de 10 Kg.

11 h : Administration de 1 cg de morphine par voie sous-cutanée

14 h : Anesthésie par injection intra-veineuse de

privénal 0,30

chloralose 0,35

La respiration artificielle est assurée par l'appareil Aga insufflant par canule trachéale un mélange d'oxygène -azote à 50 p. 100.

Installation des cathéters :

Le cathétérisme de la vessie s'opère à l'aide d'une sonde de Foley.

Le cathétérisme de l'artère fémorale permet le prélèvement de sang artériel à chaque période de clearance et celui de la veine fémorale la perfusion intra-veineuse de la solution : créatinine-mannitol et l'administration de la solution de méso-inositol.

Le cathéter de l'artère fémorale, en dehors des périodes

de prélèvement, est branché sur un manomètre à mercure permettant la mesure de la pression artérielle que l'on surveille en cours d'expérience.

15 h : Injection de la créatinine-starter : 1 g .

Mise en train de la perfusion : mannitol : 50 p. 1000; créatinine : 1 p. 1000 au rythme de 140 gouttes par minute (à régler selon l'importance du flux urinaire).

Pression artérielle : 9,5 - 10,5

Première période de clearance : (le flux urinaire atteint 6 ml par minute).

16 h 38 : La vessie est vidée, l'urine jetée.

16 h 48 : Prise de 25 ml environ de sang artériel recueilli sur héparine. Le plasma sert à la détermination de l'inosémie et de la créatininémie.

16 h 58 : Récolte des urines émises pendant cette période de 20 minutes, pour dosage de l'inosurie et de la créatininurie. On note le volume pour déterminer le flux urinaire en ml/mn.

16 h 59 : Injection intra-veineuse de solution d'inositol à 5 p. 100. Attente de 20 minutes.

Deuxième période de clearance :

17 h 19 : La vessie est vidée.

17 h 29 : Prise de sang artériel.

17 h 39 : Recueil des urines.

Troisième période de clearance :

17 h 41 : La vessie est vidée.

17 h 51 : Prise de sang.

18 h 01 : Recueil des urines.

Attente de 30 minutes.

Quatrième période de clearance :

18 h 32 : La vessie est vidée.

18 h 42 : Prise de sang.

18 h 52 : Recueil des urines.

Cinquième période de clearance :

18 h 53 : La vessie est vidée.

19 h 03 : Prise de sang.

19 h 13 : Recueil des urines.

Au cours d'une de nos expériences, nous avons intercalé des périodes d'attente de 20 minutes entre chacune des clearances après injection d'inositol.

Pour chaque période de clearance, si l'on désigne par P_I la concentration plasmatique en inositol en mg/ml, par V le débit urinaire en ml/mn, par U_I la concentration urinaire en inositol en mg/ml, la quantité d'inositol réabsorbée en mg/mn (T_I) est donnée par la formule classique :

$$T_I \text{ (mg/mn)} = P_I C_F - U_I V$$

$$P_I C_F = \text{inositol filtré en mg/mn}$$

$$U_I V = \text{inositol éliminé dans l'urine en mg/mn}$$

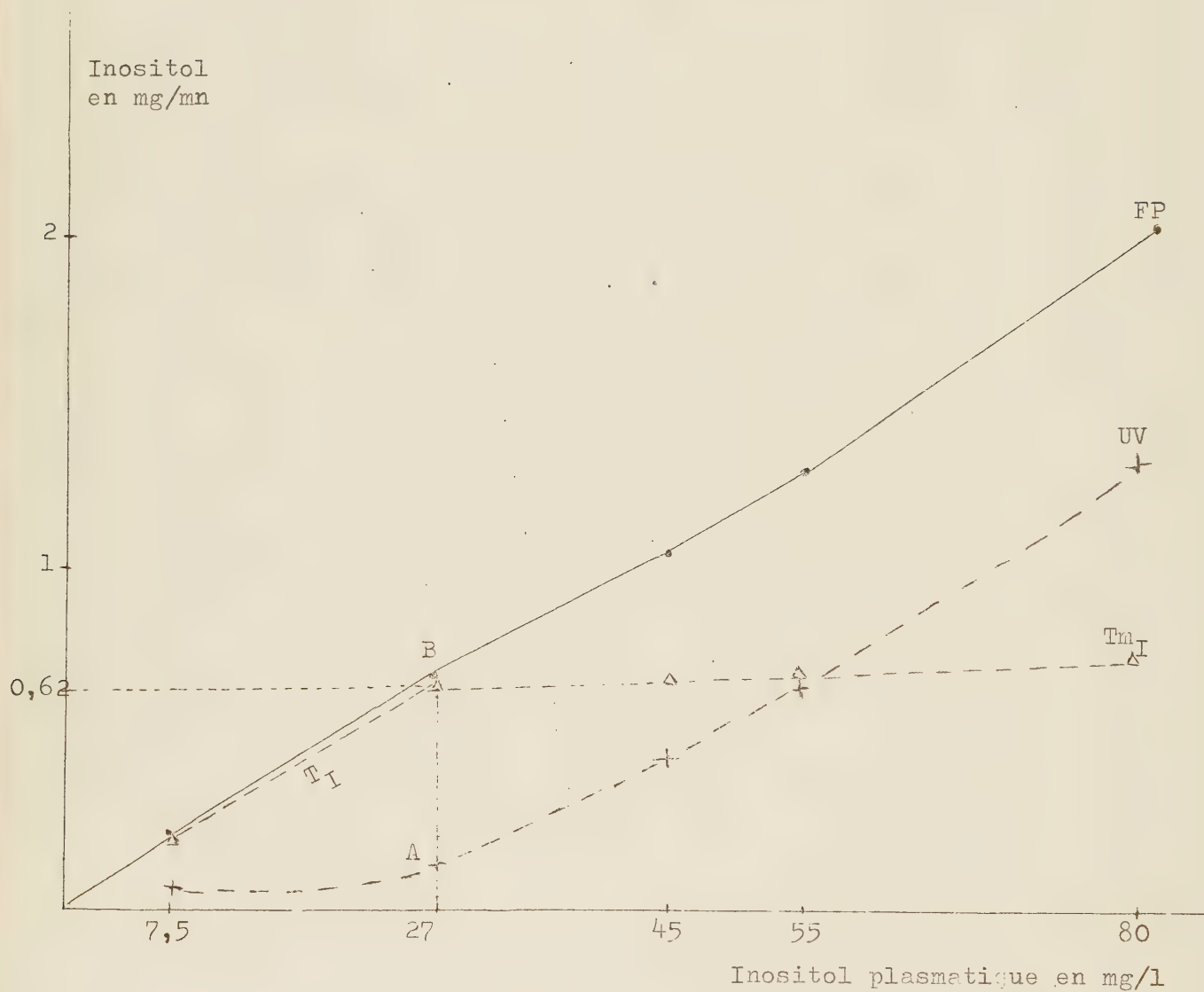
Le tableau ci-dessous donne, pour chaque période de clearance, les quantités d'inositol filtré, éliminé et réabsorbé en mg/mn et en mg pour 100 ml de filtrat glomérulaire, ainsi que les valeurs des clearances de la créatinine et de l'inositol ($\frac{UV}{P}$).

Tableau 29

	Inosémie en mg/l	Clearance créatinine ml/mn	Clearance Inositol ml/mn	Inositol					
				Filtré		Éliminé		Réabsorbé	
				mg/mn	mg/ 100ml	mg/mn	mg/ 100ml	mg/mn	mg/ 100 ml
Chien I	7,5	36,05	0,33	0,270	0,749	0,002	0,006	0,267	0,743
10 Kg	130	38,35	30,23	4,98	12,49	3,93	10,95	1,05	2,74
Injection	60	41,44	20,5	2,48	5,99	1,23	2,96	1,25	3,02
Inositol:	50	45,0	19,2	2,25	5,0	0,96	2,13	1,29	2,87
100 mg/Kg									
Chien II	7,5	25,9	0,48	0,194	0,749	0,003	0,013	0,191	0,736
14 Kg	80	25,9	16,62	2,07	7,98	1,33	5,13	0,74	2,85
Injection	55	23,2	10,36	1,27	5,47	0,57	2,45	0,70	3,02
Inositol:	45	23,04	8,0	1,03	4,47	0,36	1,56	0,67	2,91
35 mg/Kg	27	26,9	3,70	0,72	2,67	0,10	0,37	0,62	2,30
Chien III	9	57,5	1,81	0,518	0,901	0,016	0,028	0,502	0,873
16Kg 500	35	65,0	24,62	2,27	3,50	0,86	1,32	1,41	2,18
Injection	27	64,8	8,22	1,75	2,69	0,22	0,34	1,53	2,35
Inositol:	22	63,0	2,25	1,38	2,20	0,04	0,07	1,34	2,13
25 mg/Kg	11	62,0	1,36	0,68	1,09	0,01	0,02	0,67	1,07
Chien IV	8	27,3	0,56	0,213	0,783	0,004	0,016	0,209	0,767
13 Kg	150	23,5	19,73	3,52	14,97	2,96	12,59	0,56	2,38
Injection	120	23,5	18,50	2,82	12,0	2,22	9,44	0,60	2,55
Inositol:	80	21,5	13,0	1,72	8,0	1,04	4,84	0,68	3,16
100 mg/Kg	60	20,0	10,5	1,20	6,0	0,63	3,15	0,57	2,35
Chien V	8	35,17	0,25	0,281	0,798	0,002	0,005	0,279	0,793
13 kg 200	70	31,0	17,28	2,17	7,0	1,21	3,90	0,96	3,10
Injection	40	24,35	3,25	0,97	3,98	0,13	0,53	0,84	3,45
Inositol:	28	22,25	0,71	0,62	2,78	0,02	0,03	0,60	2,70
35 mg/kg	19	23,96	0,47	0,45	1,89	0,01	0,04	0,44	1,85

Nous donnons ci-contre la représentation graphique des taux en mg/mn d'inositol filtré, éliminé et réabsorbé en fonction des concentrations plasmatiques en inositol, pour les Chiens II, III, IV (Fig. 4,5, 6)

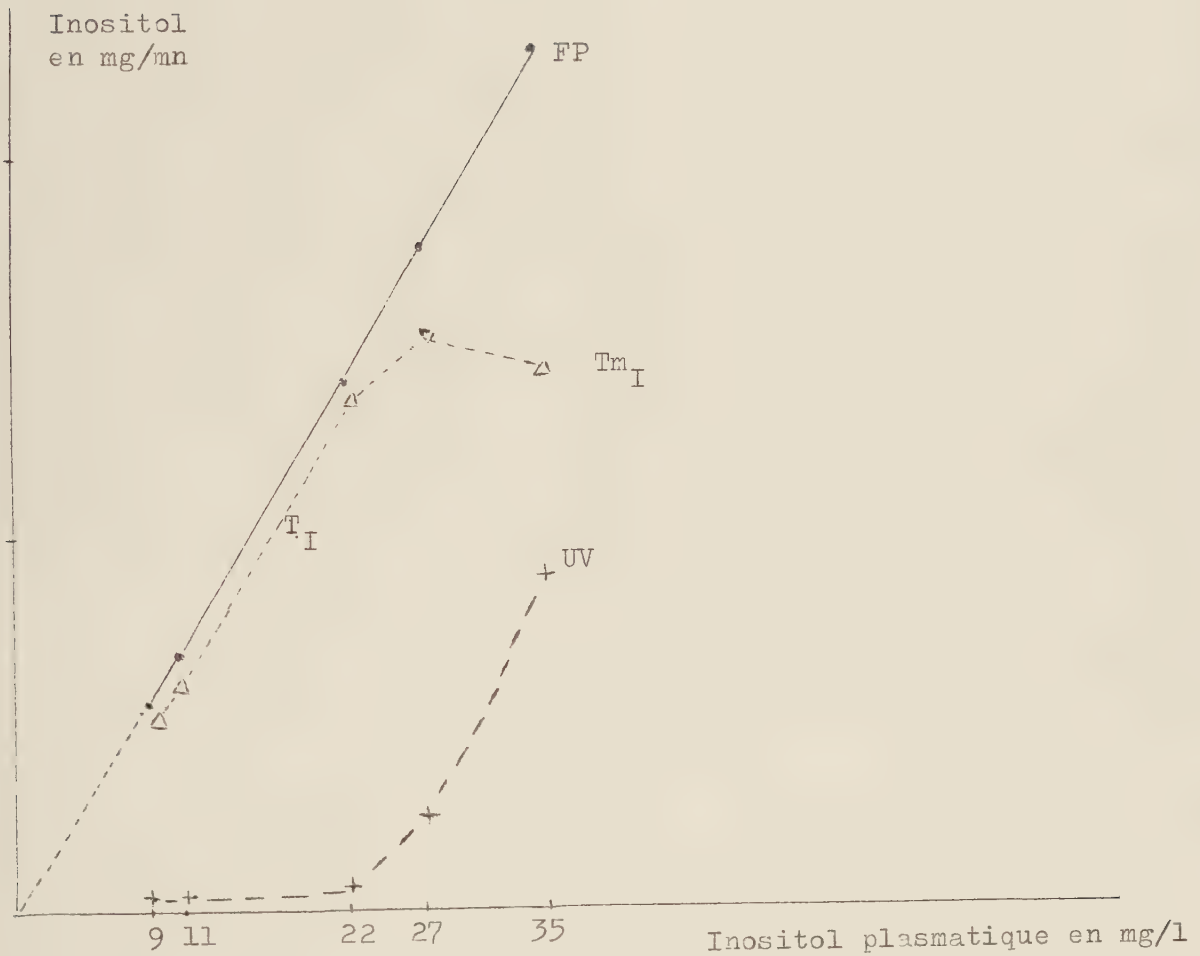
Figure 4



Chien II - VARIATIONS EN FONCTION DE L'INOSITOL
PLASMATIQUE EN mg/l.

- de l'inositol filtré en mg/mn : FP
- - - - - de l'inositol éliminé dans l'urine en mg/mn : UV
- - - - - de l'inositol réabsorbé en mg/mn : T_I

Figure 5

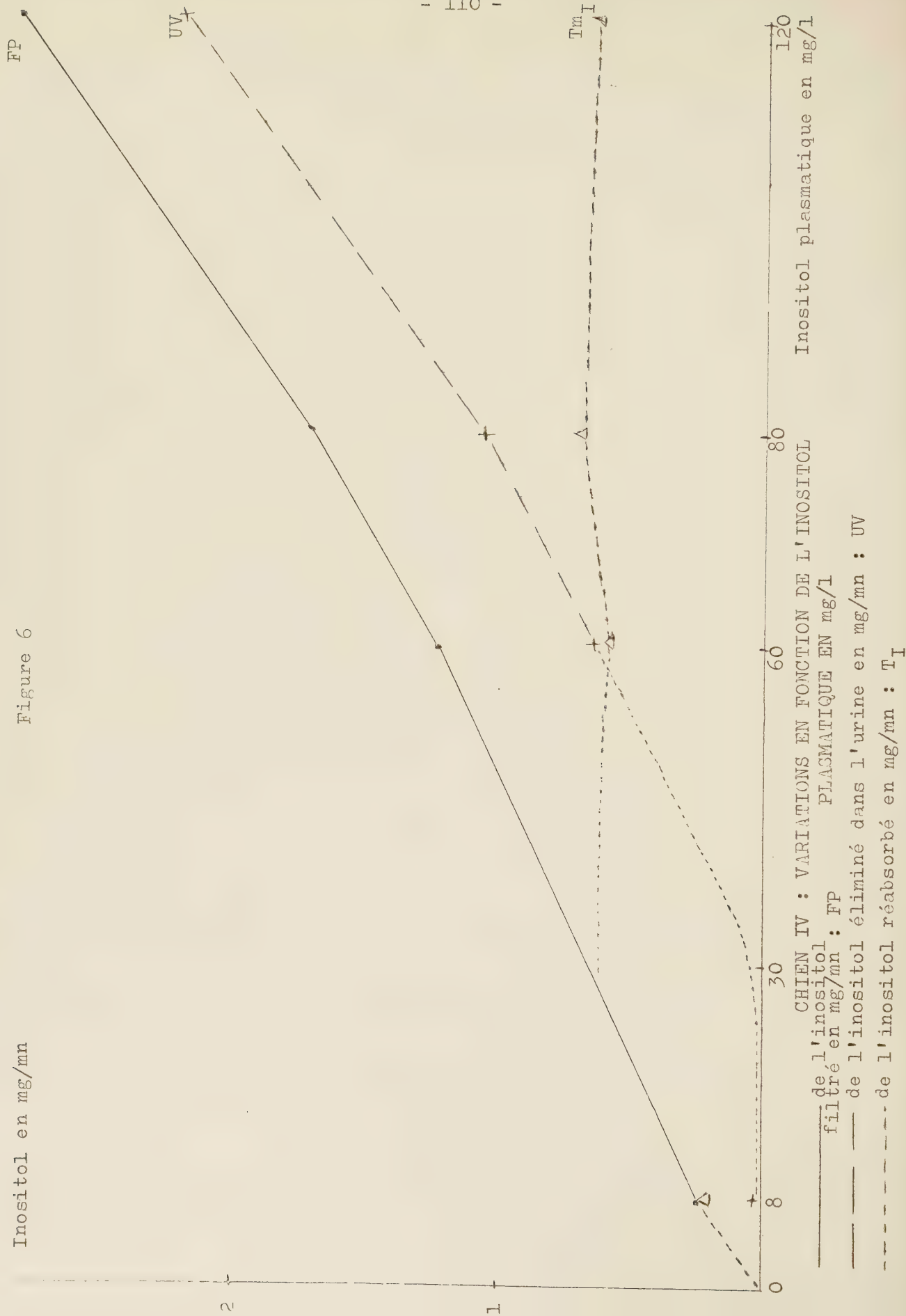


Chien III : VARIATIONS EN FONCTION DE L'INOSITOL PLASMATIQUE
en mg/l.

- de l'inositol filtré en mg/mn : FP
- - - de l'inositol éliminé dans l'urine en mg/mn : UV
- . - . de l'inositol réabsorbé en mg/mn : T_I

Inositol en mg/mn

Figure 6



Chapitre 2

INTERPRETATION DES RESULTATS

-:-

Sur les graphiques ci-dessus, FP représentant l'inositol filtré est théoriquement une droite dont l'inclinaison sur l'axe des abscisses est fonction de la valeur de C_F . Les irrégularités observées sur les graphiques sont dues aux erreurs d'expérience imputables à la technique microbiologique. La droite FP dans les expériences II et IV où la filtration est en moyenne de 25 ml /mn est beaucoup plus inclinée sur l'axe des abscisses que dans les expériences I et III où la filtration atteint 60 ml/mn. La filtration exprimée en ml/mn est représentée par le centuple de l'ordonnée du point de la droite FP correspondant à une inosémie de 10 mg par litre.

Le méso-inositol libre complètement filtré par le glomérule est presque entièrement réabsorbé dans les conditions physiologiques normales (inosémie de 8 mg par litre). Mais si le taux de l'inosémie devient supérieur à 30 mg par litre pathologiquement (cas de la néphrite chronique) ou artificiellement (épreuve d'hyperinosémie provoquée), l'incsure est accrue. T_I s'accroît pour les valeurs de l'inosémie comprises entre 12 et 30 mg par litre ; pour un taux d'inosémie voisin de 30 mg par litre chez le Chien, T_I prend une valeur maximum désignée par T_{m_I} (par analogie avec le taux maximum de réabsorption du glucose : T_{m_G}). Sur le graphique, la courbe T_I devient parallèle à l'axe des abscisses pour les valeurs de l'inosémie comprises entre 30 et 150 mg par litre.

L'existence d'un Tm_I entraîne celle d'un seuil plasmatique au-delà duquel l'inositol diffuse dans l'urine à un taux supérieur au taux physiologique. Ce seuil ne peut être exprimé par une concentration plasmatique fixe, en raison de l'inégalité fonctionnelle des néphrons. Pour nos expériences chez le Chien, il se situe entre 12 et 30 mg d'inositol par litre de plasma. Le seuil maximum est voisin de 30 mg. A partir de ce taux d'inosémie, la courbe UV hyperbolique devient une droite, parallèle à celle de la filtration ; la perpendiculaire à l'axe des abscisses coupe les droites FP et UV en 2 points A et B (voir Chien II). AB reste constant, exprimant une différence constante entre l'inositol filtré et l'inositol éliminé dans l'urine. Cette droite AB représente la capacité maximum de réabsorption de l'inositol. Elle demeure fixe pour un sujet donné, même pour des variations de filtration glomérulaire, mais elle varie avec chaque sujet, comme le montre, pour nos expériences chez le Chien, le tableau n° 30 où nous avons pris comme valeurs de C_F et de Tm_I les moyennes calculées à partir des valeurs extrêmes. Nous avons établi le rapport $\frac{C_F}{Tm_I}$ (rapport de H.W. SMITH (62)).

Tableau 30
RAPPORTS $\frac{C_F}{Tm_I}$ POUR L'INOSITOL

Chien	C_F en ml/mn	Tm_I en mg/mn	$\frac{C_F}{Tm_I}$
I	40,52 ± 4,47	1,17 ± 0,12	34,63
II	24,98 ± 1,94	0,68 ± 0,06	36,74
III	61,25 ± 3,75	1,46 ± 0,06	41,95
IV	23,65 ± 3,65	0,62 ± 0,06	38,14
V	28,71 ± 6,46	0,90 ± 0,06	31,90

Pour nos expériences, le rapport $\frac{C_F}{Tm_I}$ est de 36,92 ± 5,03. La marge d'erreur est comparable à celle du

rapport $\frac{C_F}{Tm_G}$ trouvé chez l'Homme égal à $0,371 \pm 0,0563$ pour le glucose (H.W. SMITH (62)).

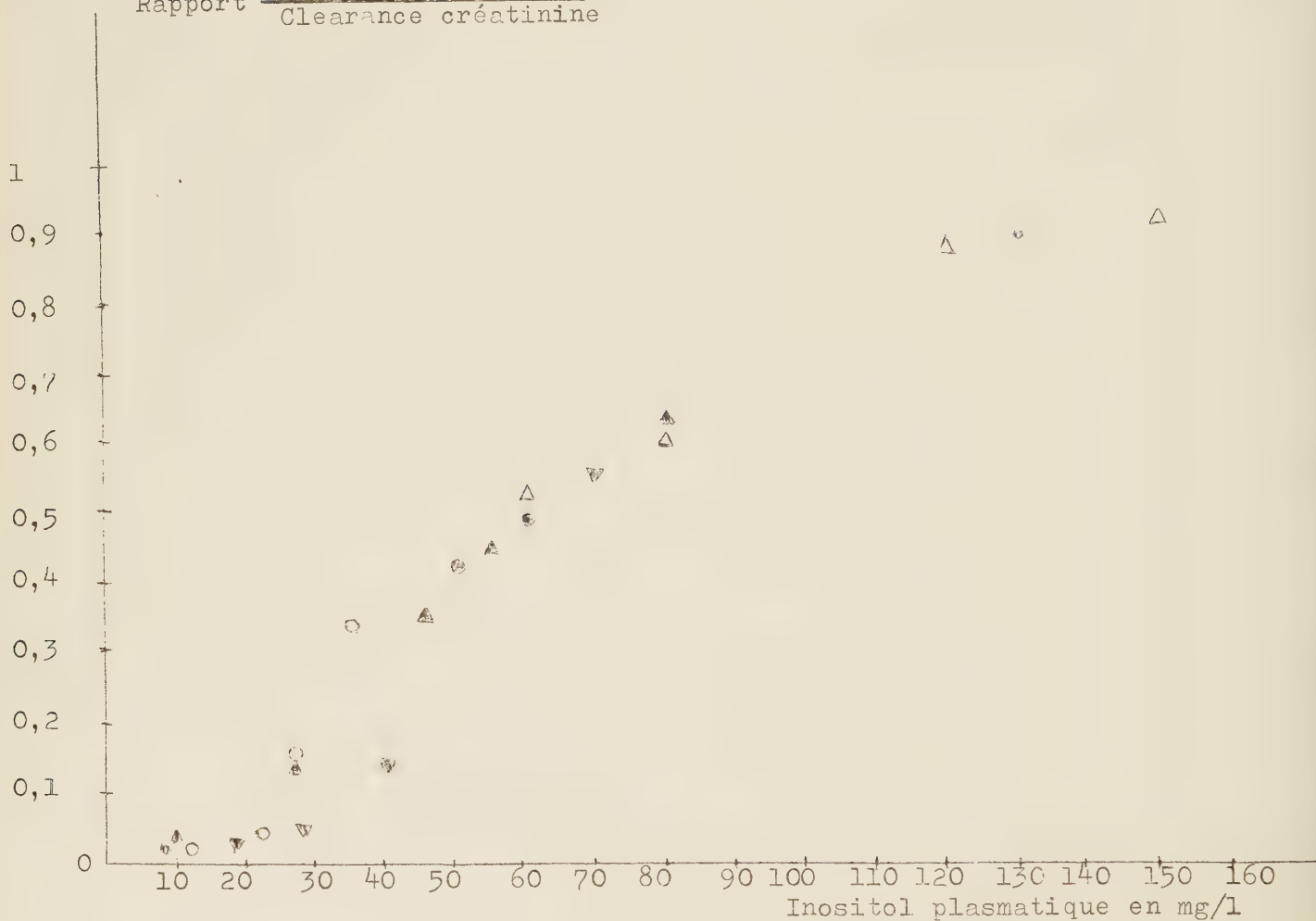
Afin de comparer les différents individus, on peut encore calculer le taux maximum d'inositol réabsorbé pour 100 ml de filtrat glomérulaire. Pour nos expériences, il est de $2,81 \pm 0,64$ mg pour 100 ml de filtrat glomérulaire.

Pour les inosémies normales (7,5 à 9 mg par litre de plasma), la quantité d'inositol réabsorbée est de $0,81 \pm 0,07$ mg pour 100 ml de filtrat glomérulaire.

La clearance de l'inositol endogène, qui est comprise pour nos expériences entre 0,25 et 1,81 ml/mn, s'élève après surcharge avec la valeur de l'inosémie suivant une courbe qui tend à rejoindre asymptotiquement celle de la clearance de filtration, pour les fortes concentrations plasmatiques en inositol. Ceci s'explique par le fait que la quantité d'inositol filtrée devient de plus en plus grande par rapport à la quantité réabsorbée et une fraction toujours croissante de l'inositol filtré est éliminée dans l'urine. Le rapport des clearances $\frac{\text{Inositol}}{\text{Créatinine}}$ tend vers l'unité (fig. 7).

Figure 7

Rapport $\frac{\text{Clearance Inositol}}{\text{Clearance créatinine}}$



VARIATION DU RAPPORT $\frac{\text{Clearance Inositol}}{\text{Clarence Créatinine}}$ EN

FONCTION DES CONCENTRATIONS PLASMATIQUES

- Chien I
- ▲ Chien II
- Chien III
- △ Chien IV
- ▽ Chien V

CONCLUSIONS :

1°) A la différence des hexitols acycliques (mannitol, sorbitol) qui sont éliminés par simple filtration indépendamment de leur concentration plasmatique, le méso-inositol est presque entièrement réabsorbé par les tubules dans les conditions physiologiques. Chez le Chien, la quantité réabsorbée varie entre 0,74 et 0,87 mg pour 100 ml de filtrat glomérulaire.

2°) L'inositol présente un taux maximum de réabsorption tubulaire désigné par Tm_I , correspondant à un seul plasmatique maximum voisin de 30 mg par litre chez le Chien. Tm_I est compris entre 0,62 et 1,46 mg/ml et demeure constant pour les valeurs de l'inosémie allant de 30 à 150 mg par litre chez le Chien.

3°) La valeur de Tm_I dépend de la filtration glomérulaire C_F . Il est bon d'établir le rapport $\frac{C_F}{Tm_I}$ qui est égal à $36,92 \pm 5,03$, la marge d'erreur étant identique à celle du rapport de SMITH pour le glucose :

$$\frac{C_F}{Tm_G} = 0,371 \pm 0,0563.$$

4°) Le rapport des clearances $\frac{\text{Inositol}}{\text{Créatinine}}$ tend vers l'unité pour les hautes teneurs plasmatiques en inositol, voisines de 150 mg par litre.

L'élimination rénale du méso-inositol présente une analogie certaine avec celle du glucose.

RESUME ET CONCLUSIONS

-:-

Au cours de ce travail, nous avons étudié l'inositol libre sanguin et urinaire dans diverses affections.

Pour l'étude de l'inosurie dans le diabète sucré, nous avons appliqué aux urines de diabétiques les techniques de désionisation par les résines échangeuses d'ions (P. MALANGEAU, C. HELLEU), d'évaluation chromatographique (P. MALANGEAU) et de dosage microbiologique du mésoinositol urinaire (J.E. COURTOIS, C. HELLEU, P. MALANGEAU et R. PERLES) à l'aide du test au Neurospora crassa mutant "inositolless" décrit par W.H. SCHOPFER. Sachant que la résine anionique Déacidite "300" retient le glucose, nous avons vérifié que la rétention du glucose ne s'accompagnait pas de celle de l'inositol pour les solutions glucose-inositol et les urines renfermant du glucose. Comme certains extraits désionisés d'urines riches en glucose présentaient encore un léger pouvoir réducteur, nous avons vérifié que les solutions de ces extraits ne modifiaient pas les résultats du dosage microbiologique par leur apport en glucose dans un milieu de culture renfermant déjà 15 g de glucose par litre.

Dans le cas des néphropathies, afin d'éliminer les protéines urinaires susceptibles de perturber le dosage du méso-inositol par un apport éventuel d'acides aminés favorisant la croissance de Neurospora crassa, nous avons opéré une thermocoagulation au pH optimum compris entre 4,5 et 5 en milieu salin convenable. Après filtration, nous avons

effectué la désionisation de l'urine déprotéinisée, suivant le procédé habituel. Comme pour les urines de diabétiques, l'évaluation approximative du méso-inositol par chromatographie sur papier a permis de prévoir la dilution de l'extrait urinaire à utiliser pour le test au Neurospora.

Afin de déterminer si l'accroissement de l'inosurie décelé dans le diabète sucré et les néphropathies avait une cause métabolique, par augmentation de l'inositol plasmatique, ou rénal par défaut de réabsorption tubulaire, nous avons été amenée à mesurer l'inositol libre du plasma. Nous avons adapté le test au Neurospora crassa mutant "inositolloss" à cette détermination qui s'effectue à l'aide de 5 ml de sérum ou de plasma non fluoré. L'inositol plasmatique est séparé des protéines par dialyse. Après désionisation de ce dialysat par passage sur microcolonnes de Permutite "50" et de Déacidite "300" et concentration à sec de l'effluent final, l'extrait obtenu sert au dosage microbiologique et à la chromatographie sur papier de l'inositol.

Chez 5 sujets normaux, la moyenne de l'inositol plasmatique a été trouvée égale à 8 mg par litre.

1°) Nous avons examiné 28 cas de diabète pancréatique. 2 cas de diabète rénal, 1 cas de diabète hypophysaire. Presque tous les sujets qui présentent une glycosurie marquée éliminent des quantités élevées de méso-inositol dépassant facilement 100 mg par litre (la moyenne chez les sujets normaux étant de 27 mg par litre). Le chiffre le plus élevé a été de 340 mg par litre, correspondant à une glycosurie modérée de 10 g par litre. Les diabétiques traités à l'insuline et qui, de ce fait, ne présentent plus de glycosurie ont une inosurie normale. Le scyllitol, isomère du méso-inositol, n'est apparu dans les urines que chez 2 sujets diabétiques, dans nos conditions opératoires. Le taux de la glycémie n'offre pas de relation quantitative avec celui de l'inosurie. Il ne sem-

ble pas non plus exister de proportionnalité entre les taux de glucose et de méso-inositol urinaires. La teneur du plasma en inositol étant normale (voisine de 8 mg par litre) chez le diabétique, l'augmentation de l'inosurie aurait une cause rénale.

Etant donné que le diabète rénal, comme les autres types de diabète, s'accompagne d'une inosurie accrue, on peut envisager un défaut de réabsorption de l'inositole, peut-être conséquence d'un trouble de la phosphorylation dû à la compétition tubulaire entre l'inositole et le glucose.

Chez 2 malades atteintes de diabète insipide, nous avons observé une diminution de l'inosurie (3 et 5 mg par litre) par suite de l'augmentation de la diurèse, mais l'élimination par 24 heures était normale. On ne saurait donc établir de relation entre la polyurie et l'accroissement de l'inosurie.

2°) L'étude de l'inosurie au cours de l'élimination urinaire de substances apparentées au glucose, administrées par voie buccale : lactose, xylose, arabinose, acide ascorbique, sorbitol, mannitol, a montré que ces substances, caractérisées dans les urines par chromatographie sur papier, n'entravent pas la réabsorption tubulaire de l'inositole. Le seul hexose entrant en compétition tubulaire marquée avec l'inositole, dont il entraîne la diffusion dans l'urine, semble donc bien être le glucose, la compétition avec le galactose étant légère.

3°) Nous avons également déterminé l'inosurie au cours d'affections musculaires. Chez 11 enfants myopathes, la moyenne de l'inosurie était de 8 mg par litre, tandis qu'elle était de 17 mg par litre chez 6 enfants normaux. L'inosémie était normale ou légèrement abaissée. Dans 3 cas de poliomyélites récentes et 1 cas de maladie de Guillain et Barré, les taux d'inosurie étaient voisins de 10 mg par litre. Il semble donc que le métabolisme de l'inositole soit inchangé dans les affections musculaires.

4°) Nous avons examiné les urines de 17 sujets atteints de néphrite chronique et de 8 sujets atteints de néphrose. Au cours des néphrites chroniques, on constate une nette augmentation de l'inosurie par litre et par 24 heures, allant de 5 à 20 fois le taux des sujets normaux (moyenne : 220 mg par litre). Il n'y a aucune proportionnalité entre les taux de l'inosurie et de la protéinurie. Au cours des néphroses, l'accroissement de l'inosurie est moins accentué (moyenne : 65 mg par litre). Après surcharge per os de 3 g d'inositol dans 6 néphropathies chroniques, nous avons observé une nette augmentation (moyenne : 205 mg par 24 heures) de l'inosurie déjà élevée avant l'épreuve (moyenne : 338 mg par 24 heures), tandis que, chez 5 sujets normaux, la moyenne de l'accroissement était de 36 mg par 24 heures. On ne peut invoquer ici, comme pour le diabète sucré, un phénomène de compétition tubulaire entre l'inositol et le glucose, ce dernier étant absent de l'urine dans la plupart des cas. Nous avons mesuré la teneur du plasma en inositol dans les néphrites chroniques et aiguës anuriques. Dans 10 cas de néphrite chronique, l'inositol plasmatique était de 85 mg par litre en moyenne. Dans 8 cas de néphrite aiguë anurique, les taux d'inosémie étaient moins élevés que dans les néphrites chroniques (moyenne : 43 mg par litre). Il est probable que l'augmentation de l'inositol libre du plasma est à l'origine de l'accroissement de l'inosurie dans les néphrites chroniques. On assisterait à une sorte de "diabète à inositol", dont la cause pourrait être recherchée dans un défaut du métabolisme de ce cyclitol qui est très actif au niveau du rein.

5°) Pour essayer de clarifier le comportement de l'inositol aux concentrations plasmatiques supérieures à la normale, nous avons réalisé une épreuve d'hyperinosémie provoquée chez le Chien. Les modalités de l'élimination rénale du méso-inositol ont été étudiées d'abord pour les concentrations plasmatiques normales : l'inositol, à la différence des hexitols acycliques (mannitol, sorbitol) est alors

presque entièrement réabsorbé par les tubules (clearances comprises entre 0,25 et 1,81 ml/mn pour nos expériences chez le Chien). La quantité réabsorbée varie entre 0,74 et 0,87 mg pour 100 ml de filtrat glomérulaire. En élevant le taux de l'inosémie par administration intra-veineuse d'inositol, on atteint une capacité maxima de réabsorption tubulaire correspondant à un seuil plasmatique maximum voisin de 30 mg par litre chez le Chien. Le taux maximum de réabsorption de l'inositol en mg/mn désigné par Tm_I varie entre 0,62 et 1,46 mg/mn chez le chien ; il demeure constant pour les taux d'inosémie compris entre 30 et 150 mg par litre. Tm_I dépend de la clearance de filtration C_F et varie avec chaque sujet. il est bon d'établir le rapport de SMITH $\frac{C_F}{Tm}$: il est de $36,92 \pm 5,03$ pour nos expériences. Le rapport des clearances $\frac{\text{Inositol}}{\text{Créatinine}}$ tend vers l'unité pour les taux d'inosémie voisins de 150 mg par litre. Ainsi l'expérimentation sur le Chien permet d'apporter une certaine clarté dans les modalités d'élimination rénale du méso-inositol : nous avons été amenée à considérer qu'à la manière du glucose, ce cyclitol se comporte comme une substance à seuil, activement métabolisable.

BIBLIOGRAPHIE

-:-

- 1 - ADCOCK (L.H.) et GRAY (C.H.) - Biochem.J. 1957, 65, 554.
- 2 - AGRANOFF (B.W.), BRADLEY (R.M.) et BRADY (R.O.) - J.Biol.Chem., 1958, 233, 1077.
- 3 - ANDERSON (L.) et COOTS (R.H.) - Biochim.Biophys.Acta 1958, 28, 666.
- 4 - ANDERSON (L.), COOTS (R.H.) et HALLIDAY (J.W.).J.Nutrition 1958, 64, 167.
- 5 - ARCHAMBAULT (A.).- Thèse Doct.Pharm. (Univ.) Paris 1956.
- 6 - AUGUSTIN (R.) et NIXON (D.A.).- Nature 1957, 179, 4558.
- 7 - BALATRE (P.) et TRAISNEL (M.).- Ann.Pharm. Fr. 1958, 16, 90.
- 8 - BASTIDE (P.).- Thèse Doct.Pharm. (Etat) Clermont-Ferrand 1954.
- 9 - BEADLE (G.W.). - J. Biol.Chem. 1944, 156, 683.
- 10 - BEST (C.H.), RIDDOUT (J.H.), PATTERSON (J.M.) et LUCAS (C.C.).- Biochem.J. 1951, 48, 448.
- 11 - BOULANGER (P.) et BISERTE (G.).- Bull.Soc.Chim.Biol. 1958, 32, 601.
- 12 - BOULANGER (P.) et BISERTE (G.).- Bull.Soc.Chim.Biol. 1951, 33, 1930.
- 13 - CAMPLING (J.D.) et NIXON (D.A.).- J. Physiol. 1954, 126, 71.
- 14 - CARTER (H.E.), GIGG (R.H.), LAW (J.H.), NAKAYAMA (T.) et WEBER (E.J.).- J. Biol.Chem. 1958, 233, 1309.
- 15 - CHARALAMPOUS (F.C.).- J.Biol.Chem. 1957, 225, 595.

- 16 - CHARALAMPOUS (F.C.).- J.Biol.Chem. 1959, 234, 220.
- 17 - CHARALAMPOUS (F.C.) et LYRAS (C.).- J. Biol.Chem. 1957, 228, 1.
- 18 - COURTOIS (J.E.), HELLEU (C.), MALANGEAU (P.) et PERLES(R.)
Bull.Soc.Chim.Biol. 1953, 35, 537.
- 19 - COURTOIS (J.E.), et PEREZ (Ch) .- Bull.Soc.Chim.Biol.
1948, 30, 631.
- 20 - DAUGHADAY (W.H.), LARNER (J.) et HOUGHTON (E.).- J.Clin.
Invest. 1954, 33, 326.
- 21 - DAUGHADAY (W.H.), LARNER (J.) et HOUGHTON (E.).- J.Clin.
Invest. 1954, 33, 1075.
- 22 - DESJOBERT (A.).- Bull.Soc.Chim.Biol. 1954, 36, 1293.
- 23 - EASTCOTT (Miss E.V.).- J.Phys.Chem. 1928, 32, 1094.
- 24 - FAURE (M.) et MORELEC-COULON (M.-J.).- Bull.Soc.Chim.
Biol. 1958, 40, 1067
- 25 - FIEVET-GUINARD (Mme Y.).- Thèse Doct.Univ.Pharm. Paris
1945
- 26 - FLETCHER (H.G.), ANDERSON (L.) et LARDY (A.L.).- J.Org.
Chem. 1951, 16, 1238.
- 27 - FLEURY (P.) et BALATRE (M.).- Les Inositols. Paris,
Masson Edit. 1947.
- 28 - FLEURY (P.), COURTOIS (J.E.) et MALANGEAU (P.).
Bull.Soc.Chim.Biol. 1953, 35, 537.
- 29 - FLEURY (P.), et JOLY (M.).- J. Pharm.Chim. 1937, 26,
341.
- 30 - FLEURY (P.) et LANGE (J.).- J. Pharm.Chim. 1933, 17,
313.
- 31 - FLEURY (P.) et MARQUE (J.).- J. Pharm.Chim. 1929, 10,
241.
- 32 - FLEURY (P.) et RECOULES (A.) .- Bull.Soc.Chim.Biol.
1949, 31, 256.
- 33 - FOLCHPI (J.) et LE BARON (F.N.).- 4th Intern.Congress
Bioch. Vienne 1958.

- 34 - GAMMELTOFT (A.) et KJERULF-JENSEN (K.).- Acta Physiol. Scandinav. 1943, 6, 368.
- 35 - GOVAERTS (P.), LAMBERT (P.P.), LEBRUN (A.) et HEINZELIN de BRAUCOURT (C. de).- Bull.Acad.roy. Méd. de Belgique 1948, 13, 253.
- 36 - HARTREE (E.F.).- Biochem.J. 1957, 66, 131.
- 37 - HELLEU (C.) .- Thèse Doct.Pharm. (Etat) 1957.
- 38 - HERKEN (H.), HATBAUER (D.) et WEYGAND (F.).- Arch. exper.Pathol.Pharmakol. 1958, 233, 301.
- 39 - IRANI (R.J.) et GANAPATHI (K.).- Exper. 1959, 15, 1.
- 40 - JOUANNET (A.L.).- Thèse Doct.Pharm.(Univ.) Paris 1953.
- 41 - KRANE (M.) et CRANE (R.K.).- J. Biol.Chem. 1959, 234, 211.
- 42 - LUCAS (C.C.).- Canad. J. Bioch. and Physiol. 1956, 34, 319.
- 43 - MALANGEAU (P.) .- Thèse Doct.Pharm. (Etat) Paris 1955.
- 44 - Mc KIBBIN (J.M.) .- J. Biol.Chem. 1956, 220, 537.
- 45 - MANN (T.) .- Nature 1951, 168, 1043.
- 46 - MATTHEWS (W.B.) et SMITH (M.J.H.).- J. Neurol.Neurosurg. Psych. 1952, 16, 184.
- 47 - MEILLERE (G.) et FLEURY (P.) .- C.R. Soc. Biol. 1906, 67, 343.
- 48 - MONTREUIL (J.) .- Colloque Sint Jans Hospital Bruges 1955, p. 209.
- 49 - NIXON (D.A.).- J. Physiol. 1952, 117, 70 P.
- 50 - ORR (W.F.) et MINOT (A.S.).- Arch.Neurol.Psychiatr. 1952, 67, 483.
- 51 - PHILLIPS (J.D.) et POLLARD (R.).- Nature 1953, 71, 41
- 52 - PLATT (B.S.) et GLOCK (G.E.).- Biochem.J. 1943, 37, 709.
- 53 - POSTERNAK (Th.), SCHOPFER (W.H.), REYMOND (D.) et LARK (C.).- Helv. Chim. Acta 1958 , 41, 235.

- 54 - RALLI (E.P.), FRIEDMAN (G.J.) et RUBIN (S.H.).- J. Clin. Invest. 1938, 17, 765.
- 55 - RANGIER (M.), de TRAVERSE (P.M.) et BONVALLET (M.).- Bull.Soc.Chim.Biol. 1948, 30, 583.
- 56 - RECOULES (A.). Thèse Doct.Pharm. (Etat) Paris 1948.
- 57 - RICHARDSON (K.E.).- Dissertation Abstr. 1958, 19, 948.
- 58 - SCHOPFER (W.H.).- Bull.Soc.Chim.Biol. 1951, 33, 1113.
- 59 - SCHOPFER (W.H.) et POSTERNAK (Th.).- Schweiz. Z. Path. Bakt. 1956, 19, 647.
- 60 - SCHOPFER (W.H.) et POSTERNAK (Th.).- Bull.Soc.Chim. Biol. 1957, 39, 1037.
- 61 - SCHOPFER (W.H.), POSTERNAK (Th.) et BOSS (M.L.).- Rev.Int.Vitaminol. 1948, 20, 121.
- 62 - SMITH (H.W.) .- The Kidney. Oxford University Press New York 1951.
- 62 bis - SMITH (H.W.) .- Principles of renal physiology New York 1955.
- 63 - SMITH (W.W.), FINKELSTEIN (N.) et SMITH (H.W.).- J. Biol.Chem. 1940, 135, 231.
- 64 - SOLS (A.).- Bull.Soc.Chim.Biol. 1957, 39, suppl. n° 2, p. 3.
- 65 - TOUSTER (O.) et HARWELL (S.O.).- J.Biol.Chem. 1958, 230, 1031.
- 66 - VAN HEYNINGEN (R.).- Biochem.J. 1957, 65, 24.
- 67 - VILKAS (E.).- C.R.Acad.Sciences 1959, 248, 604.
- 68 - WEISSBACH (A.) .- Biochim .Biophys.Acta 1958, 27, 608.
- 69 - WIEBELHAUS (V.D), BETHEIL (J.J.) et LARDY (H.A.).- Arch.Bioch. 1947, 13, 379.
- 70 - WOOLLEY (D.W.).- J.Biol.Chem. 1940, 136, 113.
- 71 - WOOLLEY (D.W.).- J.Biol.Chem. 1941, 140, 453.
- 72 - WOOLLEY (D.W.).- J.Bact. 1942, 43, 5.

TABLE DES MATIERES

-:-

<u>Introduction</u>	Pages
Note Préliminaire	1
Métabolisme et propriétés physiologiques de l'inositol.	7
<u>PREMIERE PARTIE</u>	
DESCRIPTION DES TECHNIQUES UTILISEES POUR LA DETERMINATION DE L'INOSURIE ET DE L'INOSEMIE. VALEURS NORMALES DE L'INOSEMIE.	
<u>Chapitre 1</u> : Dosage microbiologique du méso-inositol par le test au " <u>Neurospora crassa</u> ".	11
Principe	11
Technique	13
<u>Chapitre 2</u> : Caractérisation des inositols urinaires par chromatographie sur papier.	19
Préparation des chromatogrammes	19
Développement	19
Révélation	20
Interprétation des résultats	21
<u>Chapitre 3</u> : Préparation des extraits urinaires purifiés	23
<u>Chapitre 4</u> : Mode opératoire suivi pour la détermination de l'inosurie	25
Récolte des urines	25
Désionisation	25
Dosage microbiologique et chromatographie	26
<u>Chapitre 5</u> : Détermination de l'inosémie. V leurs normales	29

DEUXIEME PARTIE

ETUDE DE L'ELIMINATION RENALE DU MESO-INOSITOL
AU COURS DU DIABETE SUCRE ET DU DIABETE INSI-
PIDE.

<u>Chapitre 1</u> : Application de l'extraction et du dosa- ge microbiologique du méso-inositol aux urines de diabétiques	37
- Etude du comportement des résines échangeuses d'ions vis-à-vis de solutions titrées d'inositol et de glucose	37
- Etude du comportement des résines vis-à-vis d'urines renfermant du glucose	40
- Contrôle de l'application du test au <u>Neuro- spora</u> à des extraits urinaires désionisés ren- fermant du glucose.	42
<u>Chapitre 2</u> : Détermination de l'inosurie dans le dia- bète sucré	47
Taux observés	47
Interprétation des résultats.	51
<u>Chapitre 3</u> : Détermination de l'inosurie dans deux cas de diabète insipide.	57
Taux observés	58
Interprétation des résultats.	58

TROISIEME PARTIE

ETUDE DE L'INOSURIE AU COURS DE L'ELIMINATION
RENALE DE SUBSTANCES APPARENTÉES AU GLUCOSE

<u>Chapitre 1</u> : Exposé des résultats de l'inosurie au cours de l'élimination rénale de substances apparentées au glucose	59
<u>Chapitre 2</u> : Discussion générale des résultats.	69

QUATRIEME PARTIE

ETUDE DE L'INOSURIE ET DE L'INOSEMIE AU COURS
D'AFFECTIONS MUSCULAIRES ET NEUROMUSCULAIRES

	Pages
<u>Chapitre 1</u> : Détermination de l'inosurie et de l'ino- sémie dans les myopathies, poliomyélites.....	73
<u>Chapitre 2</u> : Interprétation des résultats	79
<u>CINQUIEME PARTIE</u>	
ETUDE DE L'INOSURIE ET DE L'INOSEMIE AU COURS DE NEPHROPATHIES	
<u>Chapitre 1</u> : Détermination de l'inosurie dans les né- phrites chroniques et les néphroses.....	81
Technique utilisée pour les urines albumineu- ses.....	81
Taux observés.....	83
<u>Chapitre 2</u> : Epreuves de surcharge per os en inositol au cours de néphropathies chroniques. Résultats	91
<u>Chapitre 3</u> : Détermination de l'inositol plasmatique au cours de néphrites aiguës et chroniques.....	95
Mesures de clearance de l'inositol endogène.....	98
Conclusion.....	99
<u>SIXIEME PARTIE</u>	
MODALITES DE L'ELIMINATION RENALE DU MESO- INOSITOL CHEZ LE CHIEN	
<u>Chapitre 1</u> : Description de l'épreuve d'hyperinosémie provoquée	102
Résultats	
<u>Chapitre 2</u> : Interprétation des résultats	111
Conclusion.....	115
<u>RESUME et CONCLUSIONS</u>	117
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	123

